Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH
H. v. GUTTENBERG-ROSTOCK, **R. HARDER**-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN
W. RUHLAND-UNTERDEUFSTETTEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

L. BRAUNER
MÜNCHEN

E. BÜNNING
TÜBINGEN

53. BAND, 6. (SCHLUSS-)HEFT
MIT 26 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 9. SEPTEMBER 1959)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1959

Planta (Berl.)

Preis DM 22.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland, L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40. — für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e.V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität, oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 830301

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 27901

53. Band **Inhaltsverzeichnis** 6. (Schluß-)Heft

Seite

FRANKE, W., Über die Biosynthese des Vitamins C. III. Mitteilung. Nachweis der Unabhängigkeit der Vitamin C-Bildung von der Photosynthese (bei *Vicia faba minor*). Mit 3 Textabbildungen 551

SPRECHER, E., Über die Guttation bei Pilzen. I. Mitteilung 565

MUSCHIK, M., Bedeutung von Größe und Alter der Blätter für die photoperiodische Blüteninduktion. Mit 2 Textabbildungen 575

KERN, H., Ein Beitrag zur quantitativen Bestimmung von Nucleinsäuren in grünen Blättern 595

RÜNGER, W., Über den Einfluß der Temperatur während verschiedener Zeitabschnitte der Kurztagperiode auf die Blütenbildung von *Kalanchoe blossfeldiana* 602

LIBBERT, E., Trijodbenzoesäure und die Stoffleitung bei höheren Pflanzen. Mit 2 Textabbildungen 612

BAUER, L., Zur Physiologie der Geschlechtsdifferenzierung bei *Splachnum luteum*. Mit 4 Textabbildungen 628

WASSERMANN, L., Die Auslösung endogen-tagesperiodischer Vorgänge bei Pflanzen durch einmalige Reize. Mit 15 Textabbildungen 647

SCHWARZE, P., Änderungen der Peroxydase- und Katalasereaktion des Blattes während der Entwicklung. Kurze Mitteilung 670

Autorenverzeichnis 673

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta 53, 551—564 (1959)

Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn

ÜBER DIE BIOSYNTHESE DES VITAMINS C

III. Mitteilung

NACHWEIS DER UNABHÄNGIGKEIT DER VITAMIN-C-BILDUNG VON DER PHOTOSYNTHESE (BEI *VICIA FABA MINOR*)

Von

WOLFGANG FRANKE

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. April 1959)

I. Einleitung

In der vorausgegangenen Mitteilung (FRANKE 1955b) war gezeigt worden, daß die Bildung des Vitamins C (VC) = Ascorbinsäure (AS) + Dehydroascorbinsäure (DAS) ein dissimilatorischer Vorgang ist, der in direkter Beziehung zur Atmung steht. Die Photosynthese hängt mit diesem Vorgang nicht zusammen, sondern liefert nur das zur Bildung notwendige Vorstufenmaterial.

Nun wird neuerdings zwischen einer lichtunabhängigen VC-Bildung in keimenden Samen (Typus I) und einer lichtabhängigen Bildung von VC in grünen Pflanzen (Typus II) unterschieden (METZNER 1957, ÅBERG 1958). Dabei wird von einer positiven Korrelation zwischen VC-Bildung und Assimilationsintensität gesprochen, ohne diese Korrelation eindeutig zu definieren, so daß der Eindruck einer — schon früher behaupteten — direkten Abhängigkeit der VC-Bildung von der Photosynthese entsteht. Dementsprechend wird in manchen Arbeiten auch eine solche direkte Beziehung angegeben (z.B. ROOTSI 1958). ÅBERG (1958) unterteilt sogar noch in eine dritte, wieder lichtunabhängige sog. traumatische VC-Bildung in verwundetem Pflanzengewebe (Typus III).

So kann die Meinung aufkommen, als gäbe es drei unterschiedliche Typen der VC-Bildung, die aber allesamt in der Synthese von AS bzw. VC enden.

Demgegenüber hatte ich dargelegt, daß in allen Fällen (Typus I—III) die VC-Synthese in kausaler Beziehung zur Atmung steht und daß die Unterschiede lediglich auf der verschiedenen Herkunft des für die Synthese notwendigen Vorstufenmaterials (z.B. Glucose) beruhen. Diese Vorstufen stammen nämlich bei Samen aus den eingelagerten Nährstoffreserven in den Keimblättern oder im Endosperm (entsprechend Typus I), aus den während der normalen Entwicklung entstandenen Assimilaten der grünen Blätter (entsprechend Typus II) oder aus der Reservestärke verwundeter Organe wie Knollen, Rhizomen und Zwiebeln (entsprechend Typus III). Bei akuten Stoffwechselaktivierungen wie bei der Keimung (I), bei gesteigerter Assimilation und Atmung infolge günstiger Außenfaktoren (II) und bei

Wundheilungsvorgängen (III) werden sie dann in verstärktem Maße zugängig und ermöglichen eine gesteigerte VC-Bildung.

Ohne Zweifel ist die VC-Bildung in grünen Pflanzenteilen indirekt von der Belichtung (Intensität und Dauer) und von der CO_2-Versorgung abhängig (FRANKE 1954, 1955b, METZNER 1957, ÅBERG 1958). Von einer direkten Beziehung zur Photosynthese kann deshalb aber nicht gesprochen werden. Wenn auch eine VC-Bildung in chlorophyllfreien Organen nicht mehr bezweifelt wird, so werden dennoch in jüngsten zusammenfassenden Darstellungen über das VC (METZNER 1957, ÅBERG 1958) die Argumente für eine direkte Abhängigkeit erneut ohne Kritik dargelegt. Da ich diese bereits ausführlich widerlegt habe (FRANKE 1955b), die Überzeugung von einer solchen Beziehung zwischen Photosynthese und VC-Bildung aber offenbar noch nicht gewichen ist, will ich in dieser Mitteilung zunächst die bereits erarbeiteten Argumente gegen diese Ansicht kritisch besprechen und dann einen weiteren Beweis vorbringen.

Die Beweise für eine Unabhängigkeit der VC-Bildung von der Photosynthese in grünen Pflanzenteilen fußen letztlich alle auf dem Nachweis einer VC-Bildung, obwohl die Photosynthese ausgeschaltet war. Diese Ausschaltung kann in sehr verschiedener Form erreicht werden:

1. Durch CO_2-Entzug. Versuche von K. und M. WEISSENBÖCK (1940) ergaben, daß bei Vergleich von normal assimilierenden grünen Keimlingen verschiedener Pflanzenarten und ebensolchen, die in CO_2-freier Atmosphäre gehalten wurden, die letzteren mindestens die gleichen, oft aber sogar höhere AS-Gehalte aufwiesen. Dagegen könnte man einwenden, daß bei solchen Keimlingen die lichtunabhängige Keimungs-VC-Bildung die Ursache der Erhöhung des VC-Gehaltes sei und daß die Photosynthesebehinderung durch CO_2-Entzug sich gar nicht auf die VC-Bildung habe auswirken können. Vielmehr seien die weiteren Versuche, in denen erwachsene, in gleicher Weise behandelte Pflanzen infolge Ausfalls der Photosynthese einen verminderten AS- bzw. VC-Gehalt aufwiesen, der beste Beweis für das Bestehen einer lichtabhängigen, mit der Photosynthese gekoppelten VC-Bildung in grünen Pflanzen. Der Hinweis darauf, daß in solchen erwachsenen Pflanzen aus den Keimblättern und dem Endosperm keine Reservestoffe mehr nachgeliefert werden und daher auch keine verfügbaren Vorstufen für die VC-Bildung vorhanden sind, kann natürlich als eine zunächst nicht bewiesene Erklärung abgelehnt werden.

In anderen Versuchen entfernten K. und M. WEISSENBÖCK an Keimlingen von *Vicia faba* die Keimblätter und hielten sie in CO_2-freier Atmosphäre. Im Vergleich zu den assimilierenden Kontrollen wiesen die Keimlinge jedoch keinen Unterschied im AS-Gehalt auf. Strenge

Kritiker könnten aber auch hier noch einwenden, daß die Photosynthese nur behindert, aber nicht völlig ausgeschaltet war, weil dank der Atmung eben doch CO_2 in den Geweben freigesetzt wurde, das reassimiliert werden konnte. Außerdem konnte auch hier die Keimlings-VC-Bildung im Spiel gewesen sein.

2. Durch Lichtentzug. Die Photosynthese kann aber mit Sicherheit durch Lichtentzug unterbunden werden. Dann haben sich in vielen Fällen vor allem bei längerer Dauer geringere AS-Gehalte ergeben (Metzner 1957, Aberg 1958). Wenn bei gleichzeitiger Berücksichtigung des Temperaturfaktors in kühl gehaltenen Blättern von *Sambucus nigra* höhere AS-Gehalte im Dunklen resultierten als in wärmer gehaltenen oder gar in belichteten Blättern (Franke 1955b), so kann hier die geringere Geschwindigkeit des VC-Abbaues relativ zu der der Synthese als Ursache der Steigerung des VC-Gehaltes ins Feld geführt werden (Franke 1957). Da aber bei Blockierung der Photosynthese die Bildung von Zuckern unterbleibt, kann die Verminderung des VC-Gehaltes auf das Fehlen von Vorstufen zurückgeführt werden, und es muß nicht unbedingt auf eine direkte Beziehung der Photosynthese zur VC-Bildung geschlossen werden. Zur Begründung dieser Überlegung hat Ruge (1957) die Lichtqualität in Beziehung zur VC-Synthese untersucht. Er ermittelte die AS-Gehalte von *Tradescantia*-Blättern, die mit Licht verschiedener Spektralbereiche bestrahlt worden waren. Dabei ergab sich, daß die höchsten AS-Gehalte bei Lichtqualitäten gebildet wurden, die nicht mit den assimilatorisch besonders wichtigen Spektralbereichen um 440 und 650 mμ identisch waren. Vielmehr erwiesen sich vor allem die Bereiche des längerwelligen Rotlichtes als besonders fördernd. Damit wird aber nur bewiesen, daß die VC-Bildung zwar durch Licht gefördert wird, nicht aber von den für die Photosynthese notwendigen Wellenlängen abhängig ist. Ruge zieht aus seinen Ergebnissen den Schluß, daß „die VC-Synthese zwar die Bereitstellung von Assimilaten (also Licht) erfordert, daß die Synthese selbst aber an dissimilatorische Prozesse geknüpft ist, die photochemisch in spezifischer Weise gesteuert werden".

Als advocatus diaboli könnte man freilich darauf verweisen, daß die Assimilation nicht in scharf definierten Spektralbereichen erfolgt, sondern, wenn auch mit unterschiedlicher Produktivität, im ganzen Bereich des sichtbaren Lichtes.

3. Durch Ausschaltung des Pigmentapparates. Eine dritte Möglichkeit, die Photosynthese zu unterbinden, besteht in der Ausschaltung des Pigmentapparates. Diese ist z.B. durch Einwirkung tiefer Temperaturen auf Keimlinge gegeben, wodurch deren Ergrünung, d.h. die Chlorophyllbildung, gehemmt wird. Weber (1940) konnte an solchen experimentell albinotischen Keimlingen nach Belichtung höhere AS-Gehalte ermitteln als an normal ergrünten Kontrollen. Gegen dieses

Verfahren ist jedoch einzuwenden, daß der Eingriff auch andere Vorgänge begünstigen kann, wie z.B. eine Beschleunigung der Zuckerbildung aus Stärke, wodurch ein größeres Angebot an Glucose als Vorstufe der AS bedingt sein könnte als bei nichtunterkühlten Keimlingen.

Eine andere Möglichkeit der Ausschaltung des Pigmentapparates ist in der Verwendung etiolierter Keimlinge gegeben. An solchen konnte SUGAWARA (1939) durch zusätzliche Lichteinwirkung bei einer größeren Anzahl von Arten eine z.T. erhebliche Steigerung des AS-Gehaltes gegenüber ergrünten Kontrollen erzielen. Allerdings setzte bei Belichtung sehr bald die Chlorophyllbildung und damit Photosynthese ein. Er wies damit ebenfalls eine von der Photosynthese unabhängige, wohl aber durch Belichtung modifizierbare VC-Bildung nach. Nicht übersehen werden darf freilich, daß das Etiolement Folgen hat, die — wie z.B. verstärktes Streckungswachstum — sich auf den gesamten physiologischen Haushalt verändernd einwirken.

Statt solcher auf physiologischem Wege albinotisch gemachter Keimlinge kann man sich natürlicher, d.h. genetisch bedingter Albinos bedienen, deren durch mangelnde Chlorophyllbildung erblich festgelegter Zustand wenigstens nicht durch Veränderungen des Temperatur- oder Lichtfaktors beeinträchtigt wird. Freilich ist die Arbeit mit derartigen albinotischen Keimlingen weitgehend vom Zufall abhängig, da sich ihre Züchtung nicht jederzeit reproduzieren läßt. So konnte SUGAWARA (1939) solche genetisch albinotischen Keimlinge von *Hordeum vulgare* und *Zea mays* verwenden und feststellen, daß ihr AS-Gehalt so hoch war wie der etiolierter Keimlinge, die unter normalen Umständen also ergrünen.

Letztlich ist aber in allen diesen Fällen eben mit Keimlingen gearbeitet worden, für die eine lichtunabhängige Keimungs-VC-Bildung nicht bestritten wird. Für den Beweis, daß die VC-Bildung grundsätzlich und bei allen Pflanzen und Pflanzenteilen ein von der Photosynthese unabhängiger Vorgang ist, der in grünen Teilen lediglich durch die Menge der dank Photosynthese gebildeten Vorstufen in seiner Intensität gefördert wird, wären daher ausgewachsene Pflanzen erforderlich, die sich nicht mehr im Keimlingszustand befinden und die nicht assimilieren, aber nicht experimentell an der Photosynthese behindert sind. Als solche Pflanzen kämen z.B. bleiche Schmarotzerpflanzen oder aber wenigstens albinotische Blätter sonst grüner Pflanzen in Frage.

Beides ist bereits untersucht worden, und in beiden Fällen konnte ein z.T. erheblicher AS- und VC-Gehalt ermittelt werden (SEYBOLD u. MEHNER 1948). Doch könnte hier eingeworfen werden, daß es vorstellbar wäre, daß der VC-Gehalt durch eine — allerdings noch nicht

bewiesene — Zuwanderung von AS aus dem Wirtsgewebe oder aus den grünen Teilen der Pflanzen zustande käme.

Somit bleibt nur eine nichtparasitische, voll albinotische ausgewachsene Pflanze als Objekt für den Nachweis einer von der Photosynthese unabhängigen VC-Bildung außerhalb des Keimlingsstadiums übrig.

Im folgenden soll über ein solches zunächst kaum vorstellbares Objekt und seinen AS-Gehalt berichtet werden.

II. Versuche und Ergebnisse

In der Nachkommenschaft eines Bastardes aus normalblättrigen und unifoliaten Genotypen von *Vicia faba minor* spalteten einige weiße, völlig albinotische Pflanzen heraus, die sich dank der reichen Nährstoffreserven in den hypogäischen Keimblättern zu 18—20 cm hohen Pflanzen entwickelt hatten und mit etwa 6—7 sog. unifoliaten, d.h. nicht zu paarigen Fiederblättern ausgewachsenen weißen Spreiten besetzt waren und bei voller Turgescenz einen durchaus gesunden Eindruck machten[1]. Mit ihrem Alter von 4—8 Wochen hatten sie das Keimlingsstadium ohne Zweifel überschritten. Weil sie nicht assimilieren konnten, mußte sich hier die Frage einer AS-Bildung unabhängig von der Photosynthese prüfen lassen. Da die erhöhte VC-Bildung während der Keimung bekanntlich nur für die ersten Keimungstage zutrifft und der VC-Gehalt danach infolge Abbaues wieder absinkt und nur bei Einsetzen der Photosynthese wieder ansteigt (Franke 1954), wäre anzunehmen gewesen, daß die Albinos keinen oder nur einen sehr geringen AS-Gehalt aufweisen würden.

Um dies zu prüfen, wurden weiße und grüne Pflanzen nach der Tee-Methode (Franke 1955a) analysiert.

Dabei zeigte sich allerdings, daß der VC-Gehalt, also die Summe aus AS + DAS, infolge einer Rötung des Extraktes nach der Reduktion mit H_2S durch Ausbildung von rötlichen Melaninvorstufen aus dem in allen Teilen in sehr reicher Menge vorhandenem Dioxyphenylalanin (DOPA) meistens nicht exakt bestimmt werden konnte. Daher soll im folgenden das Schwergewicht der Aussagen auf den AS-Wert gelegt werden. Nur in trockenen Samen und bei den Albinopflanzen sind die Rötungen ganz ausgeblieben oder so geringfügig gewesen, daß die VC-Werte als gültig angesehen werden können.

Im weiteren Text und in den Tabellen werden die folgenden Abkürzungen verwendet: FG = Frischgewicht, TG = Trockengewicht, AS = Ascorbinsäure, DAS = Dehydroascorbinsäure, VC = Vitamin C = AS + DAS, mg-% = mg pro 100 g FG oder TG.

Die AS- und VC-Gehalte der albinotischen Pflanzen sind in der Tabelle 1 in der Reihenfolge des Alters der Pflanzen wiedergegeben.

[1] Herrn Dozent Dr. Werner Gottschalk, Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn, bin ich für seinen Hinweis auf dieses Material und für dessen Überlassung zu den Analysen sowie für weiteres Saatgut einer unifoliaten Mutante zu herzlichem Danke verpflichtet.

Zum Vergleich dazu werden in Tabelle 2 die AS-Gehalte grüner Pflanzen und Pflanzenteile wiedergegeben. Dabei wurden neben mutierten Pflanzen mit unifoliaten Blättern auch solche mit normalen Fiederblättern untersucht.

Tabelle 1. *AS- und VC-Gehalte albinotischer Pflanzen von Vicia faba minor; Sproßachsen mit unifoliaten Blättern ohne Wurzeln und Keimblätter*

Versuch Nr.	Alter in Wochen	AS mg-%FG	VC mg-%FG	DAS %	AS : DAS
4	4	44,0	57,7	23,7	3,21
1	5	15,75	23,0	31,5	2,17
9	6	10,05	20,1	50,0	1,00
26a + b	8	4,5	—	—	—

Tabelle 2. *AS-Gehalte grüner Pflanzenteile von Vicia faba minor*

Versuch Nr.	Alter in Wochen	AS mg-%FG	Bemerkungen
a) Ganze Sprosse ohne Keimblätter und Wurzeln			
16	6	31,8	unifoliate Blätter
17	6	30,5	unifoliate Blätter
23a	7	36,9	unifoliate Blätter
b) Nur grüne Blätter			
2	5	64,1	Fiederblätter mit Blattstielen
5	5	78,0	Fiederblätter ohne Blattstiele
10	6	61,8	unifoliate Blätter mit Stielen
c) Grüne Sproßachsen ohne Blätter			
3	5	22,75	Pflanze mit Fiederblättern
6	5	25,2	Pflanze mit Fiederblättern
8a	6	19,1	Pflanze mit unifoliaten Blättern
11	6	12,6	Pflanze mit unifoliaten Blättern

Tabelle 3. *AS- bzw. VC-Gehalte der Bohnen (Samenschale + Keimblätter) von entwickelten Pflanzen der unifoliaten Vicia faba minor*

Versuch Nr.	Alter in Wochen	AS mg-%FG	VC mg-%FG	DAS %	AS:DAS
a) Albinotische Pflanzen					
7 (zu 4)	4	0,98	15,6	93,7	0,07
12 (zu 9)	5	0,0	7,8	100	0,0
27a (zu 26a)	8	0,0	13,75	100	0,0
27b (zu 26b)	8	0,0	7,35	100	0,0
b) Grüne unifoliate Pflanze					
13 (zu 10 + 11)	6	2,7	7,9	65,7	0,52

Weiterhin wurden die Bohnen untersucht. In der Tabelle 3 werden die Ergebnisse an den im Boden verbliebenen Keimblättern albinotischer und grüner Pflanzen des unifoliaten Typus angeführt.

III. Diskussion

Aus den Tabellen 1—3 geht zunächst hervor, daß die albinotischen Pflanzen ebenso wie die grünen AS enthalten. Unter Berücksichtigung des Alters wird jedoch deutlich, daß der AS-Gehalt der albinotischen Pflanzen zunehmend absinkt. Aber auch der VC-Gehalt vermindert sich, während der DAS-Anteil relativ ansteigt. Diese Beobachtung ist schon bekannt (FRANKE 1957), denn im prämortalen Stadium pflegt sich das Verhältnis AS:DAS stets zugunsten der DAS zu verschieben. Für den Eintritt in ein prämortales Stadium, das bei derartig assimilationsunfähigen Pflanzen zwangsläufig relativ früh nach Verbrauch der Reserven in den Keimblättern einsetzt, spricht aber außer dem Absinken des AS- und VC-Gehaltes auch die äußere Erscheinung. Denn die beiden Pflanzen, die zuletzt analysiert wurden, wiesen zur Zeit der Analyse bereits Absterbeerscheinungen auf. Die Blätter waren eingeschrumpft und an den Rändern geschwärzt (Dopa-Melanine), die Turgescenz vermindert zugunsten gleichsam in letzter Minute angelegter Seitentriebe, die aber wohl aus Mangel an Baustoffen sehr schwach waren.

Bemerkenswert ist allerdings die Feststellung, daß der AS-Gehalt der jüngsten Pflanze (Versuch 4), die aber das Keimlingsstadium weit überschritten hatte, 44,0 mg-% FG beträgt und damit den Gehalt der ebenfalls unifoliaten, aber assimilierenden grünen Sprosse erheblich übertrifft. Das Absinken des AS-Gehaltes der älteren albinotischen Sprosse erklärt sich aus dem allmählichen Verhungern infolge Mangels an organischen Nähr- und Baustoffen. Die Tatsache aber, daß der AS-Gehalt der albinotischen Sprosse anfänglich so hoch ist, läßt sich nur so verstehen, daß bis zum Verbrauch der Nährstoffreserven AS gebildet, und zwar unabhängig von einer hier gar nicht möglichen Photosynthese gebildet wird. Das wäre dann als der Beweis dafür aufzufassen, daß die VC-Bildung auch in grünen Sprossen nur indirekt von der Photosynthese abhängt, insofern durch sie Assimilate bereitgestellt werden, die das Ausgangsmaterial für die AS-Bildung liefern.

Eine Bestätigung dafür könnten Versuche bringen, in denen albinotische Pflanzen mit Zucker gefüttert würden. Diese sollten dann gegenüber nichtgefütterten albinotischen Kontrollen einen höheren VC-Gehalt aufweisen. Infolge der geringen Zahl an verfügbaren Albinopflanzen mußte jedoch von diesem Versuch abgesehen werden. Sie sollen aber an anderen Versuchsobjekten durchgeführt werden.

Ehe wir die genannte Schlußführung untermauern, sei noch ein möglicher Einwand vorgebracht, daß nämlich der in den albinotischen Sprossen ermittelte AS-Gehalt aus den Reserven in den Keimblättern der Samen stammen und eine Vorratsbildung durch die Mutterpflanze darstellen könnte. Aus Tabelle 3 geht ja hervor, daß selbst in den Keimblättern der ältesten Pflanzen noch VC in meßbaren Mengen

vorhanden ist. Abgesehen davon, daß dasselbe auch für die grünen Pflanzen gelten müßte, zeigt aber die Tabelle 4 die Haltlosigkeit dieses Einwandes. Denn der Gehalt ungekeimter Samen in mg-% TG, umgerechnet in die absoluten Mengen je Samen in γ, ist wesentlich kleiner als der jetzt auf das TG bezogene Gehalt der ganzen Pflanze, ebenfalls in absolute Mengen je Pflanze umgesetzt.

Tabelle 4. *AS- und VC-Gehalt in absoluten Mengen in trockenen Samen und in albinotischen Sprossen von Vicia faba minor*

Versuch Nr.	AS mg-% FG	VC mg-% TG	Trockengewicht in g je Samen oder Pflanze	AS/Samen oder Pflanze in γ	VC/Samen oder Pflanze in γ
			a) Trockene Samen		
Mittelwert	1,3	9,8	0,631	8,29	61,84
			b) Albinotische Pflanzen		
4	338,3	443,55	0,1735	587,4	770,2
1	138,9	201,85	0,2716	377,1	550,9
9	77,3	154,6	0,3237	250,2	500,5
26a	34,75	—	0,2996	104,4	—
26b	34,75	—	0,1807	62,6	—

Selbst bei den an AS ärmsten Albinos ist der absolute AS-Gehalt noch fast achtmal höher als im trockenen ungekeimten Samen.

Nun könnte allerdings der in den Albinos ermittelte absolute Gehalt ausschließlich auf die lichtunabhängige VC-Bildung während der Keimung zurückzuführen sein. Wir haben deshalb auch die VC-Bildung während der Keimung untersucht.

Samen der unifoliaten Mutante wurden in feuchtem Sägemehl zur Keimung gebracht und bei Zimmertemperatur teils im Dunklen, teils im Licht gehalten. In Abständen von einigen Tagen wurden dann jeweils mehrere Pflanzen etwa gleicher Größe analysiert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 5 niedergelegt. Zur Ergänzung wurden die Werte der albinotischen und grünen Pflanzen sowie trockener und gequollener Samen hinzugefügt.

Aus dieser Tabelle 5 ist zu entnehmen, daß bei etiolierten Keimlingen ebenso wie bei grünen schon innerhalb eines Tages der AS-Gehalt (in mg-% FG) zu einem gewaltigen Maximum ansteigt. Dieser auffallende Anstieg ist aber nichts anderes als die wiederholt genannte lichtunabhängige Keimlings-VC-Bildung, die sich bei anderen Pflanzenarten auf mehrere Tage erstrecken kann (z. B. *Sinapis alba*, s. FRANKE 1954). Danach sinkt der AS-Gehalt allmählich bis etwa zum 20. Tage ab und erreicht einen Wert von 24—25 mg-% FG, um den er in den folgenden Tagen schwankt. Die grünen Pflanzen haben zu diesem Zeitpunkt 5—6 Blätter ausgebildet und assimilieren ohne Zweifel schon

ausreichend. Mit der Entfaltung weiterer Blätter und damit ansteigender Assimilation werden entsprechend den äußeren Bedingungen auch wieder mehr Assimilate bereitgestellt, und der AS-Gehalt steigt

Tabelle 5. *Relative und absolute AS-Gehalte von Samen, bleichen und grünen Keimlingen und erwachsenen Jungpflanzen von Vicia faba minor*

Versuch Nr.	Alter in Tagen	Länge in cm	TG %	AS mg-% FG		AS mg-% TG		Absolute Gehalte in γ je Same oder Pflanze	
				bleich	grün	bleich	grün	bleich	grün
a) Trockene Samen									
Mittelwert	—	—	100	—	—	1,3	1,3	8,29	8,29
b) Samen nach 24 Std Quellung in Wasser									
Mittelwert	—	—	50	1,23	1,23	2,46	2,46	15,53	15,53
c) Keimlinge und Jungpflanzen									
42	1	1,5	10,31	95,73	—	928,5	—	128,3	—
41	1	1,5	11,3	—	96,36	—	852,8	—	151,28
46	2	2,3	11,86	75,64	—	637,8	—	172,08	—
47	2	2,3	9,09	—	84,89	—	933,8	—	162,35
30	3	3,5	10,66	64,26	—	602,9	—	165,79	—
31	6	3,5	10,9	—	70,42	—	645,8	—	204,22
32	8	8	8,06	47,01	—	583,2	—	292,4	—
33	11	9	8,14	—	45,18	—	554,9	—	312,49
34	15	15	7,4	32,41	—	437,9	—	498,96	—
37	18	19	7,0	—	30,2	—	431,4	—	493,0
38	20	21	6,71	23,93	—	356,1	—	524,0	—
39	23	22	7,0	—	24,17	—	345,3	—	394,67
40	23	23,5	6,88	26,64	—	387,3	—	687,84	—
43	27	26	6,8	23,8	—	350,0	—	647,84	—
44	30	18	8,3	—	28,4	—	342,3	—	372,0
45	30	20	8,3	—	27,66	—	333,3	—	282,6
48	35	27	6,67	16,48	—	247,0	—	493,08	—
d) Erwachsene Jungpflanzen									
4	28	20	13,0	44,0	—	338,3	—	587,4	—
16	42	22	14,1	—	31,8	—	225,6	—	948,24
17	42	22	14,1	—	30,5	—	216,2	—	864,39
23a	49	24	13,6	—	36,9	—	271,2	—	1150,67
e) Absterbende Albinopflanzen									
1	35	18	11,34	15,75	—	138,9	—	377,1	—
9	42	21	13,0	10,05	—	77,3	—	250,2	—
26a	56	20	13,0	4,5	—	34,75	—	104,4	—

wieder etwas an. Bei den etiolierten Keimlingen dagegen, die nur 2—3 unentfaltete Blätter aufweisen, sinkt der AS-Gehalt weiter ab. Denn die Pflanzen treten nun in ein prämortales Stadium ein, in dem die Reserven aus den Keimblättern als der einzigen Quelle ihrer organischen Nährstoffe aufgezehrt sind. Derselbe Sachverhalt zeigt sich bei Bezugnahme des AS-Gehaltes auf die Trockensubstanz.

Betrachten wir aber den absoluten Gehalt in γ, so sehen wir, daß dieser bei bleichen wie bei grünen Keimlingen und Jungpflanzen bis etwa zum 23. Tage ansteigt. Ja, er ist bei den etiolierten Pflanzen sogar zunächst erheblich höher als bei den grünen Pflanzen. Das bedeutet aber, daß eine zusätzliche VC-Bildung in Abhängigkeit von der

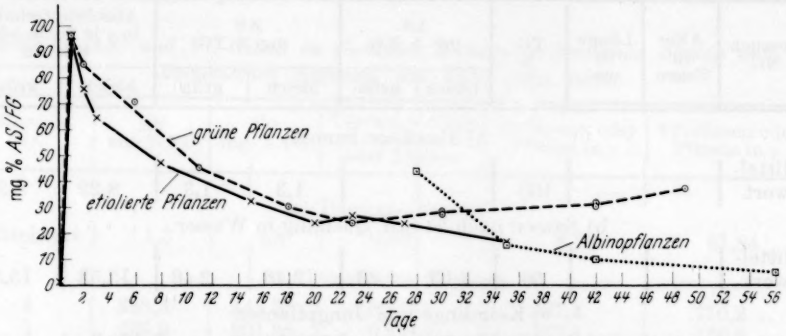

Abb. 1. Relativer Ascorbinsäuregehalt, bezogen auf das Frischgewicht (mg-% FG), in bleichen etiolierten und grünen Keim- und Jungpflanzen sowie in Albinopflanzen von *Vicia faba minor* in Abhängigkeit vom Entwicklungsalter

Photosynthese bei ergrünten Pflanzen — die Ergrünung setzt bereits am zweiten Tage ein — in diesem jungen Zustand keineswegs festzustellen ist. Im Gegenteil werden die verfügbaren Vorstufen in den

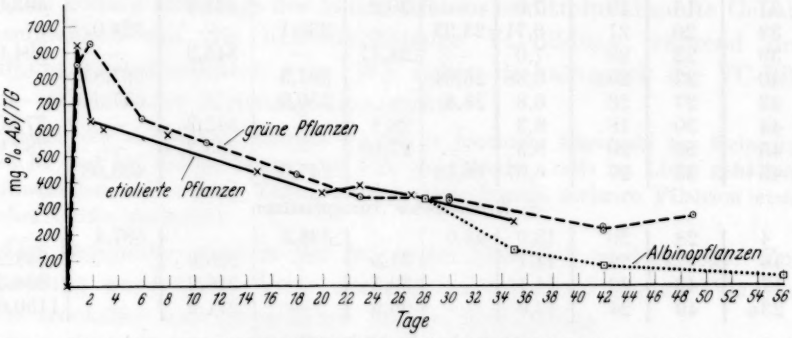

Abb. 2. Relativer Ascorbinsäuregehalt, bezogen auf das Trockengewicht (mg-% TG), in bleichen etiolierten und grünen Keim- und Jungpflanzen sowie in Albinopflanzen von *Vicia faba minor* in Abhängigkeit vom Entwicklungsalter

grünen Pflanzen wahrscheinlich für andere Synthesen verbraucht, so daß der AS-Gehalt angesichts des gedrungeneren Wuchses gegenüber den etiolierten Keimlingen relativ gleich hoch oder gar etwas höher, absolut gesehen aber doch geringer ist.

Dieser Sachverhalt wird aus den beigegebenen Abbildungen sehr deutlich. Aus der Abb. 1 können wir ersehen, daß die eigentliche Keimungs-VC-Bildung sich bei *Vicia faba* auf die ersten beiden Tage

erstreckt. In dieser Zeit wird die höchste Intensität der Bildung erreicht. Dasselbe gilt bei Bezugnahme auf das Trockengewicht (Abb. 2). Danach fallen die Kurven wieder ab. Daß das aber nicht bedeutet — und das wäre der letzte mögliche Einwand —, daß die in diesen zwei Tagen gebildete AS-Menge das Gesamtreservoir der Pflanze an AS darstellt, von dem sie in der weiteren Entwicklung zehrt oder das sie bewahrt, erhellt aus der Abb. 3. Denn da die absolute Quantität an AS sich anfänglich fortlaufend erhöht, bei den grünen Pflanzen bis zum 18. Tage, bei den etiolierten Pflanzen aber noch mehr und noch

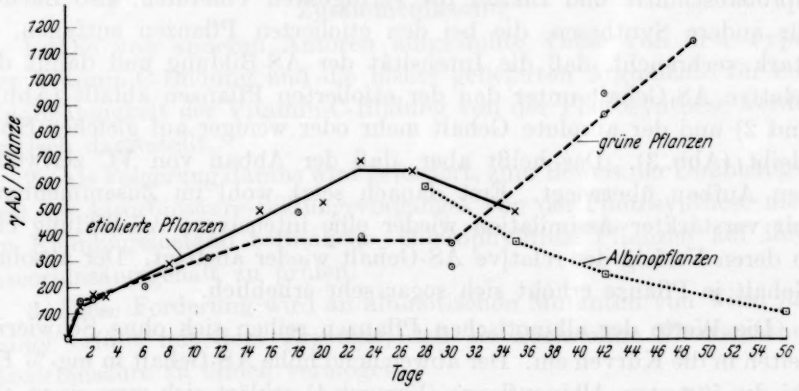

Abb. 3. Absoluter Ascorbinsäuregehalt in γ pro Pflanze in bleichen etiolierten und grünen Keim- und Jungpflanzen sowie in Albinopflanzen von *Vicia faba minor* in Abhängigkeit vom Entwicklungsalter

länger, nämlich bis zum 23. Tage, ergibt sich die zwingende Folgerung, daß auch nach der Keimungs-VC-Bildung weiterhin laufend AS gebildet wird, nur sinkt die Intensität der Bildung wieder ab.

Zur Erklärung der drei Kurvenpaare läßt sich noch folgendes ergänzen. Entscheidend für die AS-Synthese ist, wie wir schon früher festgestellt haben, die Beziehung zur Atmung. Mit Beginn der Keimung setzt die große Periode der Atmung ein, und zugleich werden durch die mit der Keimungsmobilisierung verbundene Stärkehydrolyse so große Mengen an Zucker bereitgestellt, daß neben der Verwendung zum Aufbau des wachsenden Keimlings auch genügende Quantitäten für die AS-Synthese abgezweigt und durch die ebenfalls aktivierten Fermente rasch zu AS umgesetzt werden. Dadurch kommt das anfängliche Maximum zustande (Abb. 1 und 2). In der nachfolgenden Entwicklung werden die Zucker vorwiegend zum Aufbau von Sproß und Wurzeln verbraucht, so daß die AS-Synthese sich relativ vermindert und im Gleichgewicht mit dem gleichzeitig erfolgenden Abbau von VC und unter Berücksichtigung des abnehmenden relativen Trokkengewichtes sich ein absinkender AS-Gehalt in mg-% FG bzw. mg-%

TG ergibt. Trotzdem wird weiterhin mehr AS gebildet, als abgebaut wird, wodurch der absolute Gehalt der Pflanzen an AS ansteigt (Abb. 3). Erst um den 23. Tag beginnen sich die Nährstoffvorräte der Keimblätter bei den etiolierten Pflanzen zu erschöpfen. Der relative AS-Gehalt (Abb. 1 und 2) und der absolute AS-Gehalt (Abb. 3) halten sich dann bis zum 27. Tage etwa in annähernd gleicher Höhe und sinken schließlich mit Beginn des prämortalen Stadiums weiter ab.

Die grünen Pflanzen verhalten sich bis zum 18. Tage etwa wie die etiolierten. Dann aber werden offenbar durch den Aufbau weiterer Sproßabschnitte und Blätter die verfügbaren Vorstufen, also Zucker, für andere Synthesen, die bei den etiolierten Pflanzen entfallen, so stark verbraucht, daß die Intensität der AS-Bildung und damit der relative AS-Gehalt unter den der etiolierten Pflanzen abfällt (Abb. 1 und 2) und der absolute Gehalt mehr oder weniger auf gleicher Höhe bleibt (Abb. 3). Das heißt aber, daß der Abbau von VC zeitweilig den Aufbau überwiegt. Erst danach setzt wohl im Zusammenhang mit verstärkter Assimilation wieder eine intensivere AS-Bildung ein, in deren Verfolg der relative AS-Gehalt wieder ansteigt. Der absolute Gehalt je Pflanze erhöht sich sogar sehr erheblich.

Die Werte der albinotischen Pflanzen reihen sich ohne Schwierigkeiten in die Kurven ein. Der abweichend hohe AS-Gehalt in mg-% FG bei der jüngsten Albinopflanze (Versuch 4) erklärt sich zum einen aus dem geringeren Wassergehalt bei gedrungenerem Wuchs gegenüber dem höheren Wassergehalt und langgestrecktem Wuchs der etiolierten Pflanzen und zum anderen wohl aus der Tatsache, daß die Pflanze im Licht gestanden hat und dadurch in ihrer VC-Bildung gefördert worden ist (vgl. RUGE 1957, SUGAWARA 1939).

Schluß

Aus alledem ist zwingend zu schließen, daß eine Unterscheidung von drei Typen der VC-Bildung nicht zutrifft. Vielmehr besteht nur *eine* Bildungsart, deren Ausmaß allerdings von drei Faktorengruppen bestimmt wird: 1. von der Menge an verfügbaren Vorstufen; 2. von der Intensität der für die AS-Bildung entsprechenden Atmungsart (FRANKE 1955b) und 3. von den äußeren Bedingungen vor und während des Bildungsvorganges (FRANKE 1955b, 1957).

Größere Mengen an Zucker werden sowohl bei der Keimung als auch bei Mobilisierungsvorgängen im Zusammenhang mit einer Wundheilung sowie bei erheblicher Assimilation verfügbar. Intensive Atmung setzt bei der Keimung wie bei der Wundreparatur ein (FRANKE 1954). In Zeiten aktiven Stoffwechsels geht mit lebhafter Assimilation aber auch zumeist intensivere Atmung einher. Daher kann eine verstärkte

AS-Bildung sowohl bei der Keimung als auch bei traumatischem Geschehen sowie bei starker Assimilation erwartet werden.

Die Abhängigkeit von der Photosynthese ist also nur indirekt, indem durch diese nur die Menge an Vorstufen beeinflußt wird. Der Bildungsmechanismus mag chemisch über verschiedene Reaktionswege führen (Loewus u. Mitarb. 1958), *physiologisch ist er ein dissimilatorischer Vorgang, und als solcher ist er in Beziehung auf die drei genannten Faktorengruppen stets der gleiche und kann grundsätzlich in allen Geweben und unabhängig vom Licht ablaufen.*

Zusammenfassung

1. Die von anderen Autoren aufgestellte These von drei Typen der Vitamin-C-Bildung und die bisher gelieferten Argumente für eine Unabhängigkeit der Vitamin-C-Bildung von der Photosynthese werden kritisch dargestellt.

2. Als Folgerung daraus wird gefordert, zum Beweis der Unabhängigkeit des Ascorbinsäure-Bildungsvorganges von der Photosynthese nicht im Keimlingszustand befindliche, chlorophyllfreie Pflanzen auf ihren Ascorbinsäuregehalt zu prüfen.

3. Diese Forderung wird an albinotischen Mutanten von *Vicia faba minor* erfüllt mit dem Ergebnis, daß sie auch ohne Photosynthese Ascorbinsäure zu bilden vermögen.

4. Anhand der absoluten Gehalte an Ascorbinsäure pro Pflanze wird bewiesen, daß der absolute Ascorbinsäuregehalt der albinotischen Pflanzen nicht aus den Samen allein stammen kann, da er mehr als zehnmal größer ist als der der Samen.

5. Aus den Veränderungen der Ascorbinsäuregehalte von Samen, etiolierten bleichen bzw. albinotischen oder grünen Keimlingen und Jungpflanzen während der Entwicklung wird bewiesen, daß es physiologisch nur *eine* Art der Vitamin-C-Bildung gibt, deren Ausmaß von der Menge an Vorstufen (Zucker) für die Ascorbinsäurebildung, von der Intensität der mit der Ascorbinsäurebildung in Zusammenhang stehenden Atmung und von äußeren Faktoren während der Synthese bestimmt wird. Die Abhängigkeit der Vitamin-C-Bildung von der Photosynthese ist nur indirekt, indem durch die Photosynthese lediglich die Menge der zur Vitamin-C-Bildung notwendigen Vorstufen beeinflußt wird.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich sehr für ihre Unterstützung, die mir die Ausführung der Versuche ermöglichte. Dank gebührt auch meiner technischen Assistentin, Fräulein Barbara Streitz, für ihre umsichtige Hilfe bei der Durchführung der Analysen.

Literatur

Åberg, B.: Ascorbic acid. In W. Ruhlands Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. VI, S. 479—499. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958. —

Franke, W.: Über die Biosynthese des Vitamins C. 1. Mitt. Die Beziehungen zwischen Vitamin C und der Atmung. Planta (Berl.) **44**, 437—458 (1954). — Ascorbinsäure. In K. Paech u. M. C. Tracey, Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. II, S. 95—112. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955a. — Über die Biosynthese des Vitamins C. 2. Mitt. Zur Biochemie und Physiologie der Vitamin-C-Synthese. Planta (Berl.) **45**, 166—197 (1955b). — Der Vitamin-C-Gehalt von Pflanzen in Abhängigkeit von der Temperatur und das Verhältnis Ascorbinsäure zu Dehydroascorbinsäure unter besonderer Berücksichtigung gelagerter Kartoffeln. Planta (Berl.) **49**, 345—388 (1957). — Loewus, A. F., B. J. Finkle and R. Jang: L-ascorbic acid: a possible intermediate in carbohydrate metabolism in plants. Biochim. biophys. Acta **30**, 629—635 (1958). — Metzner, H.: Die Ascorbinsäure in der Pflanzenzelle. Protoplasmatologia II, B, 2, b, α. Wien: Springer 1957. — Rootsi, N.: Zur Methodik der Askorbinsäurebestimmung bei Äpfeln. Acta agric. scand. (Stockh.) **8**, 117—130 (1958). — Ruge, U.: Der Ascorbinsäuregehalt von *Tradescantia*-Blättern in Abhängigkeit von der Wellenlänge des Lichtes. Naturwiss. **44**, 13 (1957). — Seybold, A., u. H. Mehner: Über den Gehalt an Vitamin C in Pflanzen. S.-B. Heidelberg. Akad. Wiss., Abh. 10 (1948). — Sugawara, T.: Studies on the formation of ascorbic acid in plants. I. Influence of light on the ascorbic contents in various etiolated seedlings. Jap. J. Bot. **10**, 141—150 (1939). — Weber, F.: Vitamin-C-Gehalt durch niedere Temperatur am Ergrünen verhinderter Keimlinge. Protoplasma (Wien) **34**, 314—316 (1940). — Weissenböck, K., u. M.: Vitamin-C-Gehalt im Licht CO_2-frei gezogener Pflanzen. Protoplasma (Wien) **34**, 585—592 (1940).

Priv.-Doz. Dr. Wolfgang Franke,
Bonn, Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität,
Meckenheimer Allee 176

Planta 53, 565—574 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Karlsruhe

ÜBER DIE GUTTATION BEI PILZEN

I. Mitteilung

Von

EWALD SPRECHER

(Eingegangen am 4. Mai 1959)

Einleitung

Die Guttation muß als eine ganz allgemeine und wichtige Lebensäußerung der Landpflanzen und bewurzelten Wasserpflanzen angesehen werden (FREY-WYSSLING 1941, STOCKING 1956). Bei Pilzen kann sie unter bestimmten Umständen sowohl in der Kultur, als auch am natürlichen Standort eintreten. Speziell bei ihnen ist das Guttationsphänomen experimentell nur in einigen Sonderfällen genauer untersucht worden (LEPESCHKIN 1906, KNOLL 1912 a und b, WEIS 1926, KEHL 1937, LOHWAG 1941, GRÖGER 1957), obwohl gerade hier das Zustandekommen der Guttation klarer überschaubar ist, als bei den komplizierter aufgebauten höheren Pflanzen, an denen im allgemeinen derartige Vorgänge untersucht werden.

Im Verlauf umfangreicher Untersuchungen über die Exkretion sekundärer Stoffwechselprodukte bei Pilzen konnten über die Guttation einige Beobachtungen gemacht werden, die geeignet sind, zur Aufhellung dieses Problems beizutragen.

Ziel vorliegender Untersuchung war es, an 3 bisher noch nicht in dieser Richtung geprüften Pilzen Faktoren festzustellen, die imstande sind, eine Ausscheidung flüssigen Wassers hervorzurufen und quantitativ oder qualitativ zu beeinflussen. Dabei soll besonders Wert auf solche Beobachtungen gelegt werden, die Schlüsse auf den Ausscheidungsmechanismus zulassen. Über den Fortgang gegenwärtig noch laufender Untersuchungen soll später berichtet werden.

Material und Methode

1. Verwendete Pilze. *Ceratocystis coerulescens* FPRL Nr. S. 87 (*Cera*), *Endoconidiophora virescens* FPRL Nr. S. 81 (*Endo*), *Lentinus lepideus* FPRL Nr. 7 B (*Lelep*). *Cera* und *Endo* werden zwar von HUNT (1956) unter *Ceratocystis coerulescens* (MÜNCH) Bakshi zusammengefaßt, wegen bestimmter morphologischer und physiologischer Unterschiede hier jedoch getrennt aufgeführt.

2. Kulturmethoden. Das Grundmedium enthielt je Liter destillierten Wassers Glucose 30,0; Asparagin 4,5; KH_2PO_4 1,5; $MgSO_4$ 0,5; Aneurin 2 mg; Fe, Mn, Zn, Cu in Spuren.

Für die einzelnen Ansätze wurden jeweils 50 ml Kulturflüssigkeit in einem 250 ml-Erlenmeyerkolben beimpft und bei 20 oder 28° C bebrütet; Vorkultivierung

des Impfmaterials erfolgte auf Malzagar. Als Verschluß dienten Wattestopfen mit Pergamenttektur, bei den Stickstoffkulturen wurden die Wattestopfen mit Paraffin imprägniert und nach dem Einsetzen völlig versiegelt. Für einige Untersuchungen wurden die in Flüssigkeitskulturen gewachsenen Mycelien in Petrischalen weiterkultiviert.

3. Nachweis von Exkretstoffen. Die Aminosäuren wurden zweidimensional nach REDFIELD (1953) und eindimensional mit wassergesättigtem Phenol chromatographiert und mit Ninhydrin besprüht. Nachbehandlung der Chromatogramme erfolgte nach SZANTAI (1957). Die Zucker, α-Ketosäuren und Säuren wurden ebenfalls nach chromatographischen Methoden (PAECH-TRACEY 1955) identifiziert. Die Auswertung erfolgte semiquantitativ, die in den Tabellen angegebenen Zahlen sind als Relativwerte anzusehen.

Ergebnisse

1. Einfluß der Luftfeuchtigkeit. In sehr starkem Maße ist die Ausscheidung flüssigen Wassers am Pilzmycel von der relativen Luftfeuchtigkeit abhängig. So kann bei niederen Temperaturen schon ein absolut geringer Wassergehalt der Luft die Guttation auslösen, was von GÄUMANN (1938) und FREY-WYSSLING (1941) bereits an höheren Pflanzen festgestellt wurde. Besonders kam dies aber in den eigenen Untersuchungen bei Temperaturen um den Gefrierpunkt (siehe 2.) zum Ausdruck. Andere Faktoren (s. u.) können jedoch so stark werden, daß auch bei geringem Feuchtigkeitsgehalt der Luft die Guttation einsetzt, wie auch umgekehrt eine relativ hohe Feuchtigkeit nicht in allen Fällen zur Guttation führen muß.

2. Einfluß der Temperatur. Bei keinem der 3 Versuchspilze übertraf die Guttation bei Zimmertemperatur diejenige bei 28° C unter Einhaltung sonst gleicher Bedingungen. Sowohl bei *Endo* wie auch bei *Lelep* traten bei 28° die Guttationstropfen auch nach mehrmaligem Absaugen wieder auf, was bei 20° nicht der Fall war. Umgekehrt aber schränkte eine Abkühlung des ausgewachsenen Mycels auf etwa 4° C die Guttation bei *Endo*, im Gegensatz zu *Lelep*, nicht ein, sondern förderte sie sogar teilweise stärker als bei 28° C. Diese Wirkung wurde auch durch Substratzusätze nicht negativ beeinflußt. Bei *Lelep* kann auch an durch Hitze abgetötetem Mycel eine temperaturabhängige Tröpfchenausscheidung stattfinden.

3. Beleuchtung. Diffuses Tageslicht ist im Vergleich zu Dauerdunkel ohne merklichen Einfluß. Direktes Dauerlicht erwies sich bei *Lelep* nur insoweit fördernd, als die dabei entstehende Temperatur die Guttation begünstigte. Das Licht selbst wirkte bei höherer Intensität eher leicht hemmend.

4. Chemische Zusätze. Um zu prüfen, ob außer den genannten physikalischen Reizen auch chemische Zusätze zum Substrat die Guttation beeinflussen, wurde nach bestimmten Gesichtspunkten eine diesbezügliche Auswahl getroffen.

Da alle 3 Pilze normalerweise „sekundäre Stoffwechselprodukte" in das Substrat abscheiden, war es von Interesse zu untersuchen, inwieweit ein Überschuß solcher Stoffe die Guttation beeinflussen kann. Dies könnte u. U. Schlüsse auf einen Entgiftungsmechanismus zulassen. Ferner besteht auch die Möglichkeit einer Veränderung der Permeabilität des Plasmas durch die Oberflächenaktivität dieser Stoffe. Aus demselben Grund wurden in weiteren Versuchen bestimmte organische Lösungsmittel zugesetzt.

Während in *Lelep*-Kulturen die Zugabe von 0,2% p-Methoxyzimtsäuremethylester zu dem bereits gebildeten bei jungem wie bei älterem Mycel wegen dessen Schwerlöslichkeit im Substrat keine sichtbare Reaktion ergibt, führt bei *Endo* und *Cera* 0,6% zusätzliches Methylheptenon zu einer leichten Guttationssteigerung.

Im Falle des Ketons sinkt das Luftmycel durch starke Benetzung in wenigen Tagen in das Substrat ein, wodurch mit der Zeit das ganze Mycel den fast schwarzen, feuchten Aspekt später Stadien annimmt.

Ähnlich ist die Wirkung von 1% Äther, Chloroform oder Äthanol, die ebenfalls vor dem Einsinken des Luftmycels eine leichte Guttationssteigerung hervorrufen. Im Gegensatz zum Keton bildet sich bei den 3 organischen Lösungsmitteln wieder ein neues Luftmycel, das bei Zimmertemperatur allerdings nicht mehr guttiert.

Lepeschkin (1906) hatte an *Pilobolus* eine Guttationssteigerung durch Salzsäurezugabe festgestellt. Da er die Wirkung nicht näher zu erklären vermochte, erschien es interessant, diese Mineralsäure auf die 3 Versuchspilze einwirken zu lassen. Zugabe von 0,15 ml 36%iger HCl zu 50 ml Nährlösung an einer mycelfreien Stelle führte bei allen 3 Pilzen zu einer schon nach Stunden deutlich sichtbaren Guttation, vor allem in der Nähe der Einbringungsstelle.

Um mögliche Zusammenhänge zwischen Guttation und osmotischen Vorgängen zu erkennen, wurde KCl dem Substrat bereits guttierender *Cera*-Kulturen zugesetzt. Sowohl von diesen, wie von gleich stark guttierenden Kontrollen, wurden dann nahezu alle Tröpfchen abgetupft. KCl-Konzentrationen von 1,5 bis 5,0% verhinderten eine weitere Tropfenausscheidung und reduzierten die noch vorhandene, während sie in den Kontrollen normal weiterging. Erst nach 10 bis 14 Tagen begannen die KCl-haltigen Kulturen wieder mit einer ganz geringen Guttation.

Im Verlauf von hemmungsanalytischen Studien konnten auch Beobachtungen darüber gemacht werden, inwieweit bestimmte Inhibitoren (2,4-Dinitrophenol [DNP], As_2O_3, As_2O_5, KCN, NaF, Diphenylamin [DPA], Fluoressigsäure) bei jeweils 4 verschiedenen Konzentrationen die Guttation stimulieren oder verhindern. Es war zu vermuten, daß dabei Hinweise auf für die Guttation erforderliche Stoffwechselleistungen

erhalten werden konnten. Generell ließ sich feststellen, daß keiner der 7 verwendeten Inhibitoren die Guttation gegenüber Normalbedingungen negativ beeinflußt oder völlig aufhebt. Dagegen trat in einigen Fällen eine geringfügige Stimulierung ein.

Wie NIEMAN (1954) feststellte, können bestimmte Fettsäurekonzentrationen bei Bakterien und Pilzen wie Hemmstoffe wirken, was im allgemeinen auf eine Veränderung der Zellpermeabilität zurückgeführt wird.

Eine Guttationsauslösung konnte bei *Lelep* durch Ersatz der Hälfte der Glucose des Grundmediums durch Palmitin-, Öl- oder Stearinsäure erreicht werden. *Cera* und *Endo* reagierten diesbezüglich überhaupt nicht.

5. Versuche in Stickstoffatmosphäre. *Endo* und *Cera* zeigen in N-Atmosphäre bei erhöhter Temperatur (28° C) unter den gegebenen Bedingungen eine stärkere Tropfenausscheidung als in normalen Kulturgefäßen. Um eine unterschiedliche Beeinflussung der Guttation durch die Art des Verschlusses der Kulturgefäße auszuschalten, wurden einige von ihnen mit Stickstoff, einige andere mit Sauerstoff gefüllt und alle mit Wachs verschlossen. Es zeigte sich, daß der Verschluß in diesen Fällen keine ausschlaggebende Rolle spielt.

Bemerkenswert ist, daß *Endo* und vor allem *Cera* bei Zimmertemperatur, im Gegensatz zu obigem Befund bei erhöhter Temperatur, in der N-Atmosphäre geringere Guttation zeigt als in Normalkulturen.

6. Einfluß von Alter und Zustand des Mycels. Pilze zeigen im Laufe ihrer Entwicklung eine unterschiedliche Tendenz zu guttieren. Wesentliche Voraussetzung scheint eine gewisse Mycelentwicklung zu sein, die z. B. bei Flüssigkeitskulturen eine entsprechende Luftmycelbildung voraussetzt. Am geeignetsten sind Mycelien, bei denen das Optimum des Wachstums bereits überschritten ist. Verschieden alte Entwicklungsstadien derselben Kultur können hinsichtlich der Farbe und des Gehaltes an gelösten Stoffen verschiedene Guttationstropfen produzieren (siehe 8.).

Der Einfluß des Mycelalters auf die Guttation geht auch daraus hervor, daß junges Mycel trotz relativ dichter Luftmycelschicht auf normalerweise Guttation erzwingende Reize nicht oder wesentlich schwächer reagiert als älteres Mycel. Andererseits bildet *Endo* nach mehreren Passagen auf synthetischen Nährböden bereits vor völliger Erschöpfung des Substrates bei jeder Temperatur und unter ganz verschiedenen, normalerweise nicht zur Guttation führenden Bedingungen dunkle Tropfen. Diese entstehen fast ausschließlich am ältesten Mycel um das Impfstück, das sich im Wachstum und in der Farbe deutlich vom späteren Zuwachs unterscheidet. An diesem älteren Mycel erscheinen, nur unter ganz besonderen Bedingungen (N-Atmo-

sphäre, höhere Temperatur), auch farblose bis leicht gelbliche Tropfen, die für das jüngere Mycel typisch sind.

Wie schon auf S. 566 erwähnt, kann das — im Gegensatz zu *Endo* und *Cera* — sehr dichte Luftmycel von *Lelep* auch in abgetötetem Zustand und trotz mehrmaligem Entfernen der Tropfen weiter guttieren.

7. Lokalisierung der Guttation. Die Guttation zeigt von kleinsten, kaum sichtbaren Tröpfchen über solche von etwa 2 mm Durchmesser zu flächig verlaufenen Flüssigkeitsansammlungen alle Größen. Im Gegensatz zu den feuchten Oberflächen autolysierender Mycelien besitzen die Guttationstropfen keine direkte Verbindung zu der Substratflüssigkeit, von der sie sich meist auch in ihrer chemischen Zusammensetzung unterscheiden (siehe 8.). Ausscheidungsorgane der Guttationsflüssigkeit sind die Lufthyphen, die bei *Endo, Cera* und *Lelep* mit ihrer ganzen Oberfläche ausscheiden können, obwohl im allgemeinen die Hyphenspitzen die bevorzugten Orte der Guttation sind.

Versuche mit Tuschesuspension beweisen zwar die capillare Aufstiegsmöglichkeit des Wassers bis unter das Luftmycel, zeigen aber, daß dies bei *Endo* unmittelbar nicht zur Guttation führt, da das Guttationswasser nur von den Lufthyphen selbst ausgeschieden wird.

Etwas anders liegt der Fall bei *Lelep*, wo an lebendem wie auch an totem Mycel, vor allem an den Stipuli eine gewisse Wegsamkeit für die Tusche bis zur Oberfläche festgestellt werden konnte, obwohl mit Ausnahme der Stipuli der Mycelaufbau dem bei *Cera* entspricht, das Luftmycel allerdings dichter erscheint. Interessant ist, daß bei *Lelep* zwar gewisse Hyphen und Hyphenschichten völlig tuscheabweisend sind, an anderen aber, z. B. in und auf den Stipuli, eine Tuscheakkumulation eintreten kann. Dies dürfte für das Verständnis der Guttation an totem *Lelep*-Mycel nicht unwesentlich sein.

8. Chemische Bestandteile der Guttationstropfen und ihre Veränderung im Laufe des Wachstums. Ältere Autoren (Lepeschkin 1906) beschränken sich auf exakte Untersuchungen der anorganischen Stoffe und geben die organischen nur summarisch an. Erst in neuester Zeit untersuchte Gröger (1957) den Honigtau des Mutterkorns, von dem er annimmt, daß er vom Pilz geliefert wird.

Eigene Untersuchungen an *Cera*, *Endo* und *Lelep* hatten ergeben, daß neben den Zuckern die freien Aminosäuren im Substrat Rückschlüsse auf Alter und Zustand des Mycels zulassen (Sprecher, noch unveröffentlicht). Es war nun von Interesse festzustellen, inwieweit die Zusammensetzung der Guttationstropfen mit der des Substrates übereinstimmt. Darüber gibt Tabelle 1 Aufschluß.

Die Guttationstropfen enthalten freie Zucker und Aminosäuren, annähernd in derselben Zusammensetzung wie ein älteres Mycel. Dies ist verständlich, da die Ausscheidungsstellen in und auf Fruchtkörper-

Tabelle 1. *Vergleich zwischen Guttation und Kulturflüssigkeit bei Lentinus lepideus auf dem Grundmedium*

	Substrat	Guttation
Farbe	dunkelgelb	dunkelbraun
pH	4,1	6,1
Zucker	keine	Glucose 1
		Fructose geringe Spur
Freie Aminosäuren	Asparagin 2	Alanin 6
	Glutaminsäure 1	Glutaminsäure 4
	Alanin . . . . . Spur	Valin 3,5
	Asparaginsäure . . Spur	Asparaginsäure 2
		Asparagin 2
		Glycin 2
		ferner ein Peptid

ansätzen (Stipuli) lagen. Diese unterscheiden sich (SPRECHER, noch unveröffentlicht) hinsichtlich ihres Gehaltes an freien Aminosäuren, Zucker, α-Ketosäuren und Säuren auch beträchtlich von normalem Mycel. Auf diesem wie auch auf *Endo*-Mycel, waren die Unterschiede zwischen Guttationstropfen und Substrat entsprechend weniger qualitativer als quantitativer Natur.

Auf jungen Mycelien von *Lelep* finden sich farblose und dunkelbraun gefärbte Tropfen nebeneinander. In der chemischen Zusammensetzung unterscheiden sie sich wie folgt (Tabelle 2).

Tabelle 2. *Guttationstropfen von Lentinus lepideus auf Malzagar*

	Farblose Tropfen	Dunkelbraune Tropfen
Zucker	keine	keine
Freie Aminosäuren	Alanin . . geringe Spur	Alanin 3
	Glycin . . geringe Spur	Valin 2
		Glutaminsäure 2
		Leucin 1
		Glycin . . . geringe Spur

Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß die Hyphen mit dunkelbraunen Guttationstropfen die physiologisch älteren sind.

Die oben aufgestellte Behauptung einer verschiedenartigen Ausscheidung aus physiologisch älteren gegenüber jüngeren Hyphen wird unterstrichen durch die Umkehr dieser Ergebnisse bei der Guttation einer *Penicilliumart*, die auf eine ältere *Endo*-Kultur geimpft wurde. Hier stammt also die Guttation von den jüngeren Hyphen (*Penicillium*), während in das Substrat im wesentlichen von den älteren Hyphen (*Endo*) Stoffe abgeschieden wurden.

Es ist interessant, daß die Werte der Tabelle 3 sich im Laufe weiterer Untersuchungen insofern ändern, als die Glucose im Substrat vollends verschwindet, die Apfelsäure im Substrat und die Guttation auf eine

Spur reduziert werden, und die freien Aminosäuren sich in beiden Fällen einander angleichen, um dann im Verlauf von etwa 20 Tagen durch ein Peptid ersetzt zu werden. Der p_H-Wert steigt in dieser Zeit auf 6,8.

Tabelle 3. *Guttation von Penicillium spec. auf Endoconidiophora virescens (Grundmedium)*

	Substrat	Guttation
Farbe	gelb	gelb
pH	6,4	6,4
Zucker	Glucose . . . . . Spur	keine
Freie Aminosäuren	Asparaginsäure 5	Asparaginsäure . . . 1
	Glutaminsäure 3	Glutaminsäure . . . Spur
	Asparagin 3	Glycin . . . . . Spur
	Alanin 1	
Säuren	Apfelsäure 4	Apfelsäure . . . . Spur

Von besonderer Bedeutung erscheint, daß die früher beschriebenen Stoffwechselzusätze einen Einfluß auf die Art der Ausscheidung besitzen. Dies geht aus Tabelle 4 hervor.

Tabelle 4. *Unterschiede der Guttation bei Endoconidiophora virescens mit und ohne Zusatz von HCl zum Substrat. Versuchstemperatur 28° C*

	Ohne HCl	Mit HCl (0,1 %)
Farbe	farblos	farblos
pH	7,0	1,0
Zucker	keine	Glucose 1
		Fructose. . . . . Spur
Freie Aminosäuren	Glutaminsäure . . Spur	Glutaminsäure 5
		Asparaginsäure 3
		Glycin 3
		Alanin 3

Dieses Ergebnis läßt auf eine Änderung der Permeabilität des Plasmas unter Einwirkung der Säure schließen, was weiter durch orientierende Versuche unterstrichen wird, die zeigen, daß bei Zusatz von guttationsfördernden Stoffen das Substrat sich qualitativ mehr z. B. dem „pool" der freien Aminosäuren im Mycel angleicht, wobei dieser zugunsten des Substrates mengenmäßig reduziert wird.

Die Veränderung des Substrates und damit auch der Guttation durch Exoenzyme, insbesondere der als Kriterium herangezogenen Stoffe, sind geringfügig, wie Untersuchungen an membranfiltrierten Substraten zeigten.

Diskussion

Über das Zustandekommen und die Bedeutung der Guttation gibt es eine ganze Anzahl nur teilweise experimentell gesicherter Hypothesen.

Auf sie soll in einer späteren Veröffentlichung im Zusammenhang mit eigenen Untersuchungen eingegangen werden.

Die vorliegenden Untersuchungen in N-Atmosphäre bzw. mit Hemmstoffzusätzen lassen es möglich erscheinen, daß als wesentlicher Faktor der Guttation bei den untersuchten Organismen eine passive Ausscheidung durch Permeabilitätsveränderungen des Plasmas eine Rolle spielt.

Diese Vorstellung, die schon von PFEFFER und SACHS geäußert wurde, unterbaute vor allem LEPESCHKIN (1906) durch seine *Pilobolus*versuche, WEIS (1926) durch Untersuchungen an *Nitella* und KEHL (1937) an *Mucor*. Dafür sprechen auch die eigenen Versuche mit chemischen Zusätzen und vor allem die vergleichende chemische Untersuchung von Mycel, Substrat und Guttationstropfen. Gerade die chemische Analyse erlaubt in gegenwärtig noch laufenden Untersuchungen bereits jetzt schon den auf Seite 571 geäußerten Schluß, daß die chemischen und, teilweise mindestens, auch physikalischen Reize, welche die Guttation auslösen oder steigern, die Permeabilität in positivem Sinne beeinflussen.

Nun sind die lebenden Zellen sicherlich mehr als bloße Membranen, deren Permeabilität im Laufe des Zellebens wahrscheinlich erheblichen Veränderungen unterworfen sein dürfte (HEILBRUNN 1958). Es muß allerdings klar herausgestellt werden, daß die Kulturbedingungen in keiner Weise den natürlichen Verhältnissen entsprechen und gewisse Reaktionen des Pilzes, wenn nicht als pathologisch, so doch als nicht völlig normal anzusehen sind. Dies kann einerseits im Sinne eines beschleunigten „Alterungsvorganges" gedeutet werden. Andererseits besteht die Möglichkeit, bei dem erzwungenen einseitigen Stoffwechsel das Gleichgewicht über eine gerichtete Ausscheidung aufrechtzuerhalten, was auch für die Exkretion „sekundärer Produkte" (SPRECHER 1958) gilt. Die Frage bleibt zwar zunächst offen, doch wird besonders bei höheren Pflanzen die Guttation häufig als Entgiftungsmechanismus, zum mindesten aber als Abgabe von Ballaststoffen bei unterdrückter Transpiration angesehen (BÜRGERSTEIN 1920, FREY-WYSSLING 1935, KISSER 1956). Von den hier mitgeteilten Befunden könnte z. B. die dunkle Guttation auf dem Impfstück bei *Endo*, nach HCl-Zusatz bei allen 3 Pilzen, sowie bei *Penicillium* auf *Endo* durchaus auch in dieser Richtung gedeutet werden.

Die gelegentliche Förderung der Guttation durch bereits ausgeschiedene, osmotisch wirksame Substanzen ist zwar grundsätzlich nicht auszuschließen, kann aber — wie Absaugversuche zeigen —, nicht der Hauptgrund der Guttation sein, ebensowenig wie die bei *Lelep* zu berücksichtigende rein capillare Guttationskomponente. Die vorliegenden Untersuchungen machen also wahrscheinlich, daß bei den

3 Pilzen *Ceratocystis coerulescens*, *Endoconidiophora virescens* und *Lentinus lepideus* die Guttation im wesentlichen auf Permeabilitätsveränderungen des Plasmas zurückzuführen ist.

Zusammenfassung

An den beiden nahe verwandten Ascomyceten *Endoconidiophora virescens* und *Ceratocystis coerulescens* und dem Basidiomyceten *Lentinus lepideus* wurde geprüft, inwieweit die Guttation dieser Pilze ausgelöst oder beeinflußt werden kann.

Die Untersuchungen ergaben, daß für die Tropfenausscheidung die ganze Oberfläche der Lufthyphen in Frage kommt, bevorzugte Orte jedoch die Hyphenspitzen sind.

Ein bestimmter physiologischer Zustand der Mycelien scheint Voraussetzung für den Guttationsvorgang zu sein.

Er wird positiv beeinflußt von hoher relativer Luftfeuchtigkeit, erhöhter Temperatur, wie auch in einigen Fällen von Temperaturen um den Nullpunkt, durch O_2-Entzug und von verschiedenen chemischen Zusätzen.

Von 7 Stoffwechselinhibitoren erwies sich keiner hemmend, Diphenylamin und 2,4-Dinitrophenol in bestimmter Konzentration bei je einem Pilz fördernd.

Die chemische Untersuchung von Substrat und Guttationstropfen zeigt, daß mit dem Wasser in wechselnder Menge und Zusammensetzung auch organische Stoffe ausgeschieden werden, von denen die Aminosäuren besonders auffallen.

Quantitativ und qualitativ hängt die Ausscheidung von Alter und Vorbehandlung des Mycels ab.

Die Ergebnisse werden besprochen. Als Grundlage der Guttation bei den untersuchten Pilzen wird der Permeabilitätsveränderung des Plasmas besondere Bedeutung zugemessen.

Literatur

Burgerstein, A.: Die Transpiration der Pflanzen, Teil 2. Jena: Gustav Fischer 1920. — Frey-Wyssling, A.: Die Stoffausscheidung der höheren Pflanzen. Berlin: Springer 1935. — Die Guttation als allgemeine Erscheinung. Ber. schweiz. bot. Ges. **51**, 321—325 (1941). — Gäumann, E.: Über die experimentelle Auslösung der Guttation. Ber. dtsch. bot. Ges. **56**, 396—405 (1938). — Gröger, D.: Über den Nachweis freier Aminosäuren im Honigtau des Mutterkorns. Arch. Pharm. (Weinheim) **291**, 106—109 (1958). — Heilbrunn, L.V.: Grundzüge der allgemeinen Physiologie. Berlin: VEB Dtsch. Verlag der Wissenschaften 1958. — Hunt, J.: Taxonomy of the genus Ceratocystis. Lloydia **19**, 21—23 (1956). — Kehl, H.: Ein Beitrag zur Morphologie und Physiologie der Zygophoren von Mucor mucedo. Arch. Mikrobiol. **8**, 379—406 (1937). — Kisser, J.G.: Handbuch der Pflanzenphysiologie. Bd. III: Pflanze, Wasser, Wasserumsatz und Salzstoffwechsel, S. 669—684. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956. — Knoll, F.:

Untersuchungen über den Bau und die Funktion der Cystiden und verwandter Organe. Jb. wiss. Bot. **50**, 453—501 (1912). — Über die Abscheidung von Flüssigkeit an und in den Fruchtkörpern verschiedener Hymenomyceten. Ber. dtsch. bot. Ges. **30**, 36—44 (1912). — Lepeschkin, W.W.: Zur Kenntnis des Mechanismus der aktiven Wasserausscheidung der Pflanzen. Beih. bot. Zbl. **19**, 409—452 (1906). Lohwag, H.: Anatomie der Asco- und Basidiomyceten. Berlin: Gebrüder Borntträger 1941. — Nieman, C.: Influence of trace amounts of fatty acids on the growth of microorganisms. Bact. Rev. **18**, 147—163 (1954). — Paech, K., u. M.V. Tracey: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — Pfeffer, W.: Pflanzenphysiologie. Leipzig: Wilhelm Engelmann 1897. — Redfield, R.R.: Two dimensional paper chromatographic systems with high resolving power for amino acids. Biochim. biophys. Acta **10**, 344—345 (1953). — Sprecher, E.: Beiträge zur Frage der Biogenese sekundärer Pflanzenstoffe der Weinraute (Ruta graveolens L.). Planta (Berl.) **47**, 323—358 (1956). — Ätherisches Öl in Pilzen. Pharmazie **13**, 218—220 (1958). — Geruchstoffe in Pilzen. Riechstoffe u. Aromen **8**, 329—332 (1958). — Unveröffentlichte Ergebnisse. —Stocking, C.R.: Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. III, Pflanze und Wasser, Guttation and bleeding, S. 489—502. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956. — Szantai, I.: Unterscheidung von Aminosäuren nach der Entwicklung mit Ninhydrin. Rev. Chimie **8**, 544 (1957). — Weis, A.: Zur Mechanik der Wasserausscheidung aus lebenden Pflanzenzellen. Planta (Berl.) 241—248 (1926).

Dr. Ewald Sprecher,
Karlsruhe, Botanisches Institut der Technischen Hochschule

Planta 53, 575—594 (1959)

Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. H. Ullrich)

BEDEUTUNG VON GRÖSSE UND ALTER DER BLÄTTER FÜR DIE PHOTOPERIODISCHE BLÜTENINDUKTION

Von
Margarete Muschik

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 4. Mai 1959)

Seit den grundlegenden Untersuchungen von Tschailachjan (1936a) und Moschkov (1936) ist bekannt, daß vornehmlich die Blätter die Perceptoren der photoperiodischen Stimulation sind. In ihnen laufen die noch unbekannten Reaktionen ab, und von hier aus kommt es bei genügender Induktion zur Umstimmung des Vegetationspunktes. Daß dabei das physiologische Alter der Blätter eine Rolle spielt, wurde durch partielle Verdunkelung oder Entfernen der Blätter an verschiedenen Objekten nachgewiesen und dabei festgestellt, daß alte Blätter zur Perception des Lichtreizes ungeeignet sind (Tschailachjan 1936; Moschkov 1936; Ullrich 1939; Harder und v. Witsch 1940 u. a.). Über das Verhalten sehr junger, noch nicht ausgewachsener Blätter liegen diesbezüglich nicht so eindeutige Ergebnisse vor. Moschkov fand, daß die allerjüngsten Chrysanthemenblätter ebensowenig die photoperiodische Lichtwirkung percipieren können wie die alten Blätter; nach den Untersuchungen von Harder und v. Witsch (1941) an *Kalanchoë bloßfeldiana* reagieren aber bereits hier schon die etwa $1^1/_2$ cm langen, also noch sehr unentwickelten jungendlichen Blätter.

In Arbeiten, die der Ermittlung der Lokalisation des photoperiodischen Reizes dienten oder dem Studium des Transportes der blütenbildenden Stoffe in den Pflanzen galten, findet sich immer wieder die Tatsache niedergelegt, daß positive Ergebnisse stets dann zu verzeichnen sind, wenn eine *größere* Anzahl von Blättern derjenigen photoperiodischen Einwirkung ausgesetzt wird, auf die die Pflanzen mit Blütenbildung reagieren.

Für die Beantwortung des photoperiodischen Reizes ist also die Größe der Perceptionsfläche von nicht zu übersehender Bedeutung. Wenn dies in vielen Untersuchungen nicht immer genügend Beachtung fand, mag das daran gelegen haben, daß als Kriterium der photoperiodischen Induktion die Blütenknospen der Dikotylen bzw. das Ährenschieben der Gramineen herangezogen wurde. Das sind Entwicklungsstadien der generativen Phase, die zwar ein leichtes und bequemes Diagnostizieren

gestatten, aber für gewisse Untersuchungen nicht brauchbar sind, weil die photoperiodischen Einwirkungen in den frühesten Stadien durch diese schon makroskopischen Erkennungsmerkmale nicht mehr erfaßt werden können.

Nun bietet aber gerade der Gramineen-Vegetationskegel durch die fein abgestufte Differenzierung bei der Ausbildung der embryonalen Inflorescenz in besonders günstigem Maße die Möglichkeit, durch Bestimmung des jeweiligen Entwicklungsgrades bei zunehmender Blattfläche die Bedeutung der Größe der Perceptionsfläche für die Blütenprimordienbildung festzustellen. Da für ACKERMANNS *Isaria*-Gerste bereits eine Bonitur-Skala der verschiedenen Entwicklungsstadien bzw. der embryonalen Inflorescenz ausgearbeitet worden war (MUSCHIK 1957), erwies sich diese Sommergerste als Untersuchungsobjekt für eine solche Studie recht geeignet.

Experimenteller Teil

A. Versuchsbedingungen

Die Versuche wurden in einem Klimaraum durchgeführt, um die variablen Außenfaktoren Temperatur, Feuchtigkeit und Licht, die bekanntlich die Entwicklungsgeschwindigkeit beeinflussen, besser in der Hand zu haben.

Die Beheizung des Raumes erfolgte durch einen Aka-„Friturbo"-Klimaschrank (Typ KWK IV der Firma A. Kaeser, Hamburg), der eine wahlweise Temperatureinstellung von 15—35° C gestattete, bzw. durch Kühlung die Einhaltung der geforderten Temperatur in den Sommermonaten gewährleistete. Die Temperaturkonstanz betrug $\pm 0{,}5°$ C. Mit Hilfe eines Defensor-Luftbefeuchters, der hygrostatisch gesteuert wurde, konnte der Raum auf $60 \pm 3\%$ relativer Luftfeuchtigkeit gehalten werden.

Um gleiche Ernährungsbedingungen in allen Versuchsreihen zu haben, wurden die Pflanzen in Tottinghamscher Nährlösung angezogen, der auf 20 ml pro Reagensglas 1 Tropfen einer 0,1%igen Eisenchloridlösung und 1 Tropfen A-Z-Lösung zugesetzt worden war. Gleichmäßig weit entwickelte Keimlinge, bei denen die Koleoptile gerade am Durchbrechen war, wurden in die Reagensgläser übertragen und mittels einer Filtrierpapiermanschette am Reagensglasrand befestigt. Die Höhe des Flüssigkeitsspiegels wurde während der Versuchsdauer konstantgehalten, und die verbrauchte Nährlösung in den ersten Tagen mit aqua dest., später beim Heranwachsen der Pflanzen mit halbverdünnter bzw. unverdünnter Nährlösung aufgefüllt. Ein Pilzbefall konnte durch peinliches Sauberhalten fast ganz unterdrückt werden. Sehr vorteilhaft erwies sich das kontinuierliche Durchlüften der Kulturen mit einer elektrisch betriebenen Belüftungsanlage. Die Wurzeln wuchsen kräftiger und reicher verzweigt, und die Nährlösung blieb klar und frei von bakterieller Trübung.

Die Pflanzen erhielten ausschließlich künstliches Licht, das ihnen als Dauerlicht oder 16 bzw. 10 Std-Licht geboten wurde. Eine 100 W-Glühlampe mit Reflektor diente als Lichtquelle. Die Wärmestrahlen wurden von dem Schottschen Filter BG 10 absorbiert, das unterhalb der Lampe, von aqua dest. umspült, in einer Glasschale lag.

Das Lichtfeld war, um eine recht gute und möglichst gleichmäßige Ausleuchtung zu erzielen, absichtlich klein gehalten (26 × 26 cm), so daß nur 36 Reagensgläser darin in gleichmäßiger Verteilung zur Aufstellung kamen. Weiß bekleidete Seitenwände umstellten die weiß grundierte Grundfläche und erhöhten infolge starker Reflexion nicht unwesentlich die Helligkeit.

Die Strahlenmessung erfolgte in Höhe der Pflanzen, d.h. in Höhe des oberen Reagensglasrandes, und wurde mit dem Vakuum-Thermoelement Type D der Pyro-Werke, Hannover, in Verbindung mit dem Multiflex-Galvanometer MGO (Empfindlichkeit $5 \cdot 10^{-8}$ A/mm) der Firma B. Lange, Berlin, durchgeführt. Bei dem verwendeten Strahlungsempfänger sind 3 linear angeordnete Thermoelemente in einer evakuierten Bleiglaskugel von 0,2 mm Wandstärke und 25 mm ⌀ eingeschlossen. Das Vakuum steigert die Empfindlichkeit des Gerätes und beseitigt den Einfluß störender Luftströmungen, die bereits durch minimale Temperaturänderungen hervorgerufen werden. Zudem erfüllt ein solcher Strahlungsempfänger weitaus besser die Bedingungen des Lambertschen Cosinus-Gesetzes als manches andere Thermoelement (bzw. Thermosäule), bei dem eine Begrenzung des Raumwinkels durch vorgeschaltete Blenden eintritt. Um den üblichen Spannungsschwankungen im Stromnetz zu begegnen, wurde der Wechselspannungs-Stabilisator WS 6 der Firma Wandel & Goltermann, Reutlingen (Württ.), ein elektronisch-magnetischer Konstanthalter für das Wechselstromnetz 220 V, 50 Hz mit einer Scheinleistung bis 1000 VA, zwischen Lichtquelle und Netz eingeschaltet.

Die durchgeführten Messungen ergaben einen Durchschnittswert von 10000 erg/cm² sec.

B. Die Entwicklung von Isaria-Gerste in verschieden langen Photoperioden bei stets gleicher Strahlungsintensität, Temperatur und relativer Luftfeuchtigkeit

Alle Versuche waren auf gleiche Strahlungsintensität abgestellt. Die Temperatur wurde im Verlauf der Untersuchungen zunächst variiert, um diejenige Temperatur zu finden, bei der unter Dauerlichtbedingungen die Entwicklung der Pflanzen besonders günstig verläuft. Bei einer Temperaturstufe von 20°C wiesen die Keimpflanzen nach 12 Belichtungstagen noch ziemlich kleine Vegetationskegel auf, so daß es zwecklos gewesen wäre, unter diesen Bedingungen etwa noch eine Änderung der Länge der Photoperiode und deren Auswirkung auf die pflanzliche Entwicklung in weiteren Versuchen zu prüfen.

Bei 24,5° C und 60% relativer Luftfeuchtigkeit konnte nach der gleichen Versuchszeit im Dauerlicht ein durchschnittlicher Entwicklungsgrad des Vegetationskegels von 6,7 erreicht werden, so daß nunmehr in diesem Temperatur- und Feuchtigkeitsbereich auch noch Versuchsreihen mit täglich 16- bzw. 10stündiger Photoperiode durchgeführt wurden. Wie zu erwarten, waren die im 16 Std-Tag aufgewachsenen Gerstenpflanzen in ihrer Entwicklung noch nicht so weit wie die der Dauerlicht-Kultur. Noch weiter zurück waren selbstverständlich die Pflanzen der 10stündigen Lichtperiode.

Eine Zusammenstellung der ausgewerteten Versuchsreihen bringt Tabelle 1 und zeigt, daß schon nach den wenigen Versuchstagen der am

Tabelle 1. *Anzahl und Länge der Blätter sowie Differenzierungsgrad der Vegetationskegel als Maß der Entwicklung nach 12 Tagen verschieden langer Photoperioden*

Länge der Photoperiode	Zahl der Blätter	Durchschnittliche Länge in cm des				Zahl der Versuchsreihen	Vegetationskegel, durchschnittlicher Entwicklungsgrad
		1. Bl.	2. Bl.	3. Bl.	4. Bl.		
Dauerlicht 20° C	2	13,8	17,3	—	—	2	3,0
Dauerlicht 24,5° C	4	14,9	27,5	26,5	5,3	4	6,7
16 Std-Tag 24,5° C	4	13,5	25,8	19,4	1,0	3	3,8
10 Std-Tag 24,5° C	3	14,4	24,8	8,5	—	4	1,9

weitesten fortgeschrittene Vegetationskegel stets bei den Pflanzen vorliegt, die a) die größere Zahl Blätter entfaltet haben und b) deren drittes bzw. viertes Blatt — soweit letzteres unter den gegebenen Bedingungen nach dieser kurzen Zeit schon vorhanden sein konnte — den größeren Längenvorsprung hat. Die Blattbreite wurde, da sie kaum meßbar differierte, bei den Messungen vernachlässigt. Während das erste Blatt nach etwa 6 Tagen in allen Versuchsreihen unabhängig von der gebotenen Tageslänge sein Wachstum abgeschlossen hatte und keine sehr großen Differenzen in der erreichten Länge aufweist, findet man bei den nachfolgenden, noch wachsenden Blättern bereits erhebliche Unterschiede in der Blattlänge, was sich wiederum in dem Grad der Vegetationskegelentwicklung äußerte. Bei 106 präparierten Gerstenpflanzen aus dem 16 Std-Tag konnte ein Entwicklungsstadium von 3,8 im Mittel festgestellt werden; die 142 präparierten Pflanzen aus dem 10 Std-Tag wiesen ein durchschnittliches Entwicklungsstadium von 1,9 auf. Die Häufigkeit der einzelnen Entwicklungsstadien ist in der Abb. 1 wiedergegeben.

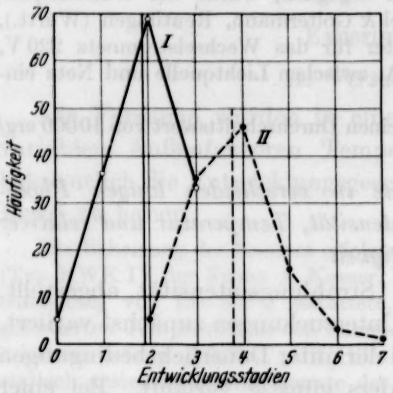

Abb. 1. Kurve *I*. 10 Std-Lichtperiode, Durchschnittswert der Vegetationskegelentwicklung 1,9. Kurve *II*. 16 Std-Lichtperiode, Durchschnittswert der Vegetationskegelentwicklung 3,8. Abszisse: Entwicklungsstadien der Vegetationskegel. Ordinate: Häufigkeit der einzelnen Entwicklungsstadien

Die Relation des Entwicklungsgrades des Vegetationskegels zur Blattlänge und somit zur Blattfläche kommt in Tabelle 2, in der als Beispiel die 4 Serien des Dauerlichtversuches bei 24,5° C in Einzelergebnissen wiedergegeben werden, noch auffallender zum Ausdruck. Jede andere Versuchsreihe hätte zur Bestätigung der Beziehung, daß die Entwicklung des Vegetationskegels abhängig von der Größe der entfalteten Blattfläche ist, ebensogut als Beispiel angeführt werden

Tabelle 2. *Die 4 Serien des Dauerlichtversuches bei 24,5° C, in Einzelserie-Ergebnissen dargestellt*

Länge der Photoperiode	Zahl der Blätter	Durchschnittliche Länge in cm des				Zahl der Pflanzen	Vegetationskegel, durchschnittlicher Entwicklungsgrad
		1. Bl.	2. Bl.	3. Bl.	4. Bl.		
Dauerlicht Serie 1	4	15,0	28,8	28,1	4,7	35	6,8
Dauerlicht Serie 2	4	14,6	27,3	32,0	7,8	35	8,3
Dauerlicht Serie 3	3	15,4	27,3	23,2	—	35	5,8
Dauerlicht Serie 4	3	14,6	26,8	22,9	—	35	6,0

können. Daß in den Serien 3 und 4 der Tabelle 2 die Pflanzen nur 3 Blätter und folglich auch einen weniger weit entwickelten Vegetationskegel hatten, lag daran, daß die Einhaltung der Temperatur während einiger Versuchstage aus technischen Gründen nicht möglich war.

Bei Hirse (Seratowsche Hirse, KT-Pflanze) und Sommergerste (Krimsche 016, LT-Pflanze), an denen TSCHAILACHJAN (1936b) den Mechanismus der photoperiodischen Reaktion untersuchte, trat eine unterschiedliche Beschleunigung in der generativen Phase ein, wenn den Pflanzen 4 bzw. 3, 2 oder nur 1 Blatt belassen wurde, während sie der wirksamen Photoperiode ausgesetzt waren. Ein Teil der aufgelaufenen Hirse erhielt sofort eine 20tägige Kurztagsinduktion und wuchs anschließend in normalen Tageslichtverhältnissen weiter. Ein anderer Teil des Versuchsmaterials stand die ganze Zeit über im normalen Tageslicht; auch diesen Pflanzen hatte man während der ersten 20 Tage nur jeweils so viele Blätter belassen (also maximal 4) wie jenen, die den photoperiodischen Reiz erhielten. Die nach diesen 20 Tagen sich neu entfaltenden Blätter wurden bei allen Pflanzen, einschließlich der photoinduzierten, nicht mehr entfernt. Hirse im „4 Blatt-Stadium" bildete im Normaltag nach 68 Tagen Rispen aus, kurztaginduzierte Exemplare bereits nach 43 Tagen. Die durch die wirksame Photoperiode des 10 Std-Tages hervorgerufene Entwicklungsbeschleunigung von 25 Tagen im Vergleich zur Entwicklung der Pflanzen im Normaltag wurde auf 22 Tage reduziert, wenn man den Pflanzen nur 3 Blätter beließ, ihnen das vierte nachwachsende Blatt also täglich abschnitt. Verblieben an den Pflanzen in der Zeit der Kurztagseinwirkung nur noch 2 Blätter, dann betrug die Beschleunigung 17 Tage gegenüber den „Normaltagspflanzen", und sie war praktisch aufgehoben bei den Exemplaren, die im „1 Blatt-Stadium" die 20tägige Induktion erhalten hatten. Die unterschiedliche Entwicklungsbeschleunigung steht also auch hier in eindeutiger Abhängigkeit von der Größe der Blattfläche.

Versuche mit *Kalanchoë bloßfeldiana*

Kalanchoë-Kurztagspflanzen aus dem 9 Std-Tag sommerlicher Lichtverhältnisse stellen im allgemeinen nach Entwicklung von durchschnittlich 3 Laubblattpaaren ihren Vegetationspunkt auf Blütenbildung um. In der freien Natur geschieht dies bei den Pflanzen gewöhnlich auch erst, wenn sie eine mehr oder weniger lange Zeit vegetativ gewachsen sind. Es scheint, als ob annuelle Sommerpflanzen eine für jede Pflanzenart charakteristische Mindest-Blattfläche entwickelt haben müssen, wenn sich die Umbildung des vegetativen Meristems in ein florales vollziehen

soll. So bilden Tomaten Blütenknospen aus, wenn mindestens 5 Laubblattpaare entwickelt sind (DE WAARD und ROODENBURG 1948). Buschbohnen gelangen in den Zustand des blühreifen Alters, wenn sie wenigstens 5 Laubblattpaare entfaltet haben. In der nachstehenden Tabelle 3 werden die Resultate wiedergegeben, die wir im Februar in einem Gewächshausversuch mit Zusatzlicht verschiedenartiger Lichtquellen erhielten. Der Zeitpunkt des Erscheinens der Blütenknospen, bedingt durch die unterschiedlichen Lichtverhältnisse, differierte um 7 Tage und war bei den Kontrollen und den Pflanzen unter den Dunkelstrahlern am weitesten hinausgeschoben.

Tabelle 3. *Anzahl der Blätter bei Buschbohnen im Blütenknospenzustand unter Tages- und Zusatzlichtbedingungen*

	Lichtart, Zusatzlicht				
	Siccatherm-licht	Hg-Licht	Leuchtstoff-lampe Bella Lux	Kontrolle Tageslicht	Dunkelstrahler
Zahl der Blätter (Mittelwert)	6,0	5,9	6,0	5,6	5,9

Nun entwickeln bekanntlich viele Pflanzen, wie beispielsweise *Chrysanthemum indicum*, *Euphorbia pulcherrima* (Poinsettia), *Plantago lanceolata*, *Perilla ocymoides*, *Amaranthus caudatus*, *Kalanchoë bloßfeldiana*, in einer für die Blütenbildung ungünstigen Photoperiode wesentlich größere Blattspreiten. Die Flächenausdehnung eines Langtagsblattes von *Kalanchoë bloßfeldiana* kann bis zu 35 cm² betragen, während die Blattfläche eines Kurztagexemplares höchstens 2,5 cm² groß wird (HARDER 1946). Infolge der oftmals beachtlich vergrößerten Blattfläche könnte erwartet werden, daß eine weitaus geringere Zahl induktiver Perioden zur Blütenanlage genügt. Versuche mit lokalisierter Photoinduktion zeigten aber, daß von den unter nichtinduzierender Tageslänge gehaltenen Blättern eine Hemmwirkung ausgeht, die die Blühreaktion verzögert. Aus diesen Versuchen mit partieller Verdunkelung von Blättern an vegetativ gezogenen Pflanzen geht ferner hervor, daß die Blütenbildung um so stärker gefördert wird und desto früher einsetzt, je mehr Blätter der photoperiodisch wirksamen Tageslänge ausgesetzt werden (MOSCHKOV 1936, HARDER und v. WITSCH 1940 u. a.). Das besagt, daß je größer die reaktionsfähige Fläche einer Pflanze ist, um so weniger photoinduzierende Expositionen für die Blütenanlage erforderlich sind und umgekehrt eine kleine reaktionsfähige Perceptionsfläche den Blühimpuls nur bzw. noch geben kann, wenn die Zeitdauer der induktiven Einwirkung entsprechend lang genug ist. Die Zahl der induzierenden Cyclen ist also — optimale klimatische Verhältnisse, insbesondere optimale Lichtverhältnisse vorausgesetzt — von der Größe der einer Induktion ausgesetzten Blattfläche abhängig.

Ob und wieweit die vor Induktionsbeginn bereits ausgebildete Gesamtblattfläche und das bis dahin erreichte Lebensalter eine Rolle spielt bei Pflanzen, die, bis auf ein Blatt bzw. Blattpaar entblättert, schon nach kurzfristiger Induktion Blütenanlagen ausbilden, sollte experimentell an *Kalanchoë bloßfeldiana* geklärt werden.

A. Die Wirkung der Kurztagsinduktion auf die Blütenbildung von Kalanchoë-Pflanzen, die — in unterschiedlichem Alter bis auf 1 Blattpaar entlaubt — photoinduziert werden

Für diese Versuche standen Pflanzen zur Verfügung, die aus der Saat vom 30. April 1958 hervorgegangen waren und im Gewächshaus unter natürlichen Lichtverhältnissen aufwuchsen.

Beim Verfolgen der oben angeschnittenen Frage können selbstverständlich eindeutige Ergebnisse nur dann erzielt werden, wenn das stehengelassene Blattpaar stets gleicher Insertion und somit gleichen physiologischen Alters ist. Erst dann ist die größte Wahrscheinlichkeit gegeben, daß auch die gleiche Lichtempfindlichkeit vorliegt. Wir haben, da sich mit der Alterung des Blattes die Perceptionsempfindlichkeit erheblich reduziert, ja sogar ganz erlöschen kann, junge noch wachsende Blätter an der Pflanze belassen und jeweils das zweitjüngste Blattpaar der oberen Stengelregion gewählt. Das jüngste Blattpaar, das meist noch sehr klein war, wurde laufend soweit wie nur irgend möglich zurückgeschnitten. Die beiden stehengelassenen Blätter wurden ebenso wie die abgeschnittenen gepaust und dann ihre Fläche planimetrisch ermittelt. Die Pflanzen erhielten von da ab bis zum Tage der Präparation Kurztag (9 Std). Mit einiger Übung ist es möglich, bei Lupenvergrößerung bereits an der Gewächshauspflanze festzustellen, ob Blütenstandsanlagen mikroskopisch nachweisbar sind. Der Termin für die Präparation stand also für keine der Pflanzen von vornherein fest, sondern richtete sich nach dem Lupenbefund. Bei nur 3 Pflanzen von insgesamt 106 Stück war bei diesem Vorgehen die Präparation zu früh erfolgt, d. h., die Pflanzen befanden sich zu diesem Zeitpunkt noch im vegetativen Stadium; bei allen übrigen konnte zum größten Teil das Stadium I der Blütenstandsanlage und in vereinzelten Fällen das schon weiter differenzierte Stadium II (Abb. 2) mikroskopisch festgestellt werden. Für die Auswertung wurde der Flächeninhalt der abge-

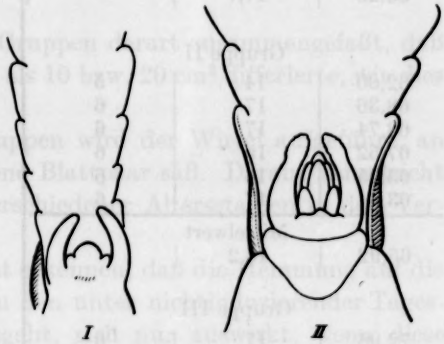

Abb. 2. Entwicklungsstadium I und II der Blütenstandsanlage von *Kalanchoë bloßfeldiana*

Tabelle 4. *Photoperiodisches Verhalten von Kalanchoë-Langtagsexemplaren verschiedener Altersstadien mit unterschiedlich großer Blattfläche, die in Gruppen zusammengefaßt sind. Die Pflanzen waren bis auf 1 Blattpaar entblättert dem 9-Std-Tag ausgesetzt worden*

Größe der entfernten Blattfläche in cm²	Zeit in Tagen bis zur Ausbildung der Blütenprim.	Ansatzstelle (Wirtel) des stehengelassenen Blattpaares
	Gruppe I	
51,45	17	5
50,76	17	5
58,10	17	5
50,00	17	5
59,17	18	5
56,81	20	5
	Mittelwert	
55,25	17,7	
	Gruppe II	
62,00	14	5
68,36	17	6
68,74	17	6
67,52	16	6
65,45	16	6
63,44	17	6
	Mittelwert	
65,92	16,2	
	Gruppe III	
72,98	17	6
70,4	19	6
78,1	18	6
71,53	14	6
70,55	16	6
71,8	15	6
71,72	17	6
71,76	15	6
	Mittelwert	
72,32	16,4	
	Gruppe IV	
80,74	15	6
84,24	18	6
89,04	16	6
	Mittelwert	
84,67	16,3	
	Gruppe V	
93,81	16	6
91,63	16	6
94,84	12	6
90,92	17	6
92,33	17	6
99,04	15	6
92,86	15	6
95,10	17	7
99,50	18	7
91,22	17	7
94,36	17	7
	Mittelwert	
94,14	16,1	
	Gruppe VI	
103,58	14	6
103,63	14	6
111,37	13	6
117,06	16	6
108,19	13	6
116,1	12	6
112,24	14	6
105,44	19	7
118,27	16	7
117,55	16	7
119,70	17	7
110,65	20	8
	Mittelwert	
111,97	15,3	
	Gruppe VII	
121,1	12	6
135,76	19	7
135,19	17	7
126,52	18	7
132,27	16	7
129,26	15	7
134,30	16	7
139,49	14	7
135,77	15	7
135,66	16	7
135,07	17	7
128,20	17	7
122,8	17	7
130,7	15	7
132,79	19	8
	Mittelwert	
131,65	16,2	

Tabelle 4 (Fortsetzung)

Größe der entfernten Blattfläche in cm²	Zeit in Tagen bis zur Ausbildung der Blütenprim.	Ansatzstelle (Wirtel) des stehengelassenen Blattpaares	Größe der entfernten Blattfläche in cm²	Zeit in Tagen bis zur Ausbildung der Blütenprim.	Ansatzstelle (Wirtel) des stehengelassenen Blattpaares
Gruppe VIII			Gruppe IX		
143,7	18	7	168,30	12	7
140,63	17	7	(77) 174,25	20	8
142,78	17	7	(79) 171,4	20	8
144,47	16	7	(86) 173,78	19	8
150,49	15	7	177,53	15	8
141,89	14	7	Mittelwert		
154,44	15	7	173,05	17,2	
147,0	13	7			
140,86	19	8			
Mittelwert					
145,14	16,0				

schnittenen Blätter in einzelnen Gruppen derart zusammengefaßt, daß er innerhalb derselben nicht mehr als 10 bzw. 20 cm² differierte, wie dies Tabelle 4 wiedergibt.

In Spalte 3 der einzelnen Gruppen wird der Wirtel aufgeführt, an dem das an der Pflanze verbliebene Blattpaar saß. Daraus kann leicht ersehen werden, daß Pflanzen verschiedener Altersstadien in den Versuch einbezogen worden sind.

Die Ergebnisse lassen zunächst erkennen, daß die Hemmung auf die Blütenprimordienbildung, die von den unter nichtinduzierender Tageslänge gewachsenen Blättern ausgeht, sich nur auswirkt, wenn diese Blätter an der Pflanze verbleiben. Werden sie, wie in unserer Versuchsdurchführung, weitestgehend entfernt, so geht offensichtlich auch die von ihnen ausgehende Hemmwirkung verloren. Läge nämlich eine Hemmwirkung noch vor, dann müßte sie sich in Abhängigkeit von der *Größe* der entfernten Blattfläche auch in einer unterschiedlichen Zeit bis zum Erscheinen der Blütenprimordien äußern. Vergleicht man die Mittelwerte der einzelnen Gruppen untereinander, so findet man, daß sie zahlenmäßig wohl etwas schwanken, daß aber der früheste und späteste Termin nur 2 Tage auseinanderliegt. Es ist durchaus anzunehmen, daß beim Auswerten eines größeren Pflanzenmaterials die Streuung der Mittelwerte noch geringer gewesen wäre. Ferner muß mitberücksichtigt werden, daß im Falle des fortgeschrittenen Entwicklungsstadiums II eine längere Zeitspanne verstrichen sein mußte, als bis zur Ausbildung des Entwicklungsstadiums I erforderlich gewesen ist. Gerade bei Versuchsbeginn passierte es noch, daß infolge geringer Erfahrung die Präparation um 1 oder gar 2 Tage hinausgeschoben wurde, um ja möglichst wenige Pflanzen zu früh, d. h. in der vegetativen Phase, zu präparieren. Davon betroffen wurde besonders Gruppe I. Besteht dann die

Tabelle 5. *Abhängigkeit der Blütenprimordienbildung von der Größe der photoinduzierten Blattfläche*

Protokoll-Nr.	Größe der photoinduzierten Blattfläche in cm²	Größe der entfernten Blattfläche in cm²	Zeit in Tagen bis zur Ausbildung der Blütenprim.
	Gruppe I		
12	2,6	70,4	19
76	2,9	198,45	20
77	2,5	174,25	20
79	2,4	171,4	20
81	2,8	152,6	20
84	2,4	197,15	19
	Gruppe II		
13	3,7	68,36	17
40	3,4	65,45	16
65	3,4	91,22	17
75	3,2	194,43	20
80	3,1	212,16	19
82	3,1	168,0	17
86	3,8	173,78	19
	Gruppe III		
1	4,7	39,63	17
6	4,7	38,45	17
14	4,1	78,1	18
24	4,4	84,24	18
41	4,0	63,44	17
43	4,1	135,76	19
46	4,0	105,44	19
48	4,0	144,47	18
50	4,2	118,27	16
52	4,1	95,10	17
53	4,2	99,5	18
64	4,7	135,77	15
66	4,1	94,36	17
105	4,1	177,53	15
	Gruppe IV		
5	5,3	50,0	17
11	5,1	72,98	17
17	5,8	93,81	16
22	5,3	92,33	17
23	5,9	80,74	15
25	5,1	70,55	16
27	5,6	71,72	17
37	5,6	68,74	17
44	5,7	143,7	17
49	5,3	135,19	17
51	5,1	126,52	18
55	5,2	117,55	16
57	5,2	129,26	15
61	5,9	139,49	14
62	5,9	154,44	15
78	5,3	225,26	20
	Gruppe V		
3	6,4	50,76	17
4	6,9	58,10	17
15	6,7	71,53	14
16	6,1	101,65	15
26	6,0	71,8	15
35	6,9	99,04	15
39	6,5	67,52	16
42	6,3	92,86	15
45	6,5	140,63	17
47	6,1	142,78	16
54	6,7	132,27	16
59	6,6	134,30	16
69	6,3	135,66	16
70	6,6	135,07	16
71	6,1	128,20	17
72	6,8	119,7	17
103	6,0	195,7	14
	Gruppe VI		
2	7,9	51,45	17
9	7,7	59,17	18
18	7,7	91,63	16
20	7,4	103,58	14
21	7,5	90,92	17
38	7,3	71,76	15
67	7,2	119,9	18
73	7,5	122,8	17
74	7,0	130,7	15
	Gruppe VII		
30	8,4	117,06	16
31	8,6	108,19	13
32	8,2	89,04	16
56	8,2	150,49	15
	Gruppe VIII		
10	9,6	56,81	19
60	9,4	168,30	12
63	9,4	147,0	13
	Gruppe IX		
8	11,0	62,0	14
19	11,2	94,84	12
28	10,0	103,63	14
29	10,8	111,37	13
33	11,3	116,1	12
34	10,4	112,24	14
36	12,7	121,1	12

Gruppe zudem noch aus nur wenigen Versuchsgliedern, so wird sich dies durch Erhöhung des Mittelwertes entsprechend ausdrücken.

Nun könnte freilich, wenn man innerhalb einer Gruppe die bis zum Tage der Präparation verstrichene Zeit untereinander vergleicht, der Einwand erhoben werden, daß die Werte in der einen oder anderen Gruppe vielleicht zu stark differieren, ja daß in der Gruppe IX durchaus der Eindruck erweckt wird, daß hier eine Tendenz zu einem höheren Mittelwert nur infolge der geringen Zahl der Versuchsglieder nicht zum Ausdruck kommt. Worauf dies beruht, soll im folgenden noch erörtert werden.

Es war weiter oben betont worden, daß bei der Versuchsdurchführung besonderer Wert darauf gelegt wurde, nur solche Blattpaare als Perceptionsorgane an der Pflanze stehenzulassen, die gleichen physiologischen Alters sind. Ordnet man nun die Größe dieser photoinduzierten Blattflächen in ansteigenden Flächeneinheiten an, notiert gleichzeitig die Größe der entfernten Blattfläche und die jeweils verstrichene Zeit bis zur mikroskopischen Kontrolle der Blütenstandsanlage, dann geht aus einer derartigen Aufstellung (Tabelle 5) hervor, daß weder die bereits entfaltet gewesene Blattfläche noch das verschieden hohe Lebensalter der Pflanzen für die Anlegung der generativen Organe bestimmend ist, sondern einzig und allein die Größe der Perceptionsfläche dafür entscheidend ist. Pflanzen mit kleiner Induktionsfläche benötigten durchwegs einen längeren Zeitraum bis zur mikroskopisch nachweisbaren Blütenstandsanlage, Pflanzen, die bei Versuchsbeginn schon über eine größere Blattfläche verfügten, eine entsprechend kürzere Zeit. Dies erklärt nun also, warum in Tabelle 4, Gruppe IX so relativ hohe Zahlen stehen. Die Pflanzen Nr. (77), (79), (86) besaßen nämlich Blattflächen von nur 2,5; 2,4 bzw. 3,8 cm^2 Größe, als sie der Kurztagsbehandlung unterworfen wurden. Es bleibt aber völlig gleichgültig, ob die Gesamtblattfläche groß oder klein war. Zwischen den einzelnen Versuchsgliedern innerhalb einer Gruppe konnte ein Flächenunterschied von 300% und noch mehr bestehen, er wirkte sich ebensowenig aus wie der Altersunterschied, der bis zu 32 Tagen betragen konnte. Tabelle 6 bringt der besseren Übersicht wegen zusammengefaßt die wesentlichen Daten der verschiedenen Gruppen aus Tabelle 5, die arithmetische Mittelwerte aus den Einzelwerten der jeweiligen Gruppe darstellen. In Spalte c wird der Quotient aus dem Verhältnis der durchschnittlichen Größe der Blattfläche bei Versuchsende zu jener bei Versuchsbeginn angeführt. Dieser Quotient muß selbstverständlich um so kleiner werden, je größer die Blattfläche wird, und schließlich den Wert Null erreichen, wenn das Blattwachstum abgeschlossen ist. Der Quotient wurde deshalb in die Tabelle aufgenommen, weil aus seiner Größe am besten ersehen werden kann, daß alle photoinduzierten

Blätter noch im wachstumsfähigen Alter waren. Die Relation, die zwischen der Blattflächenausdehnung und der erforderlichen Zeit bis zur Blütenprimordienbildung besteht, läßt ein Vergleich der Spalte b mit e erkennen. Er zeigt: Je großflächiger die photoinduzierten Blätter werden, desto kürzer wird die Zeitspanne bis zum mikroskopischen Sichtbarwerden der Blütenanlagen.

Die Tatsache, daß das Lebensalter der Pflanzen offensichtlich keinen Einfluß auf den Zeitpunkt der Ausbildung der Blütenstandsanlagen nimmt, wenn an den Pflanzen *alle* Blätter entfernt werden bis auf ein junges Blattpaar an der Sproßspitze, das der photoperiodischen Einwirkung ausgesetzt wird, ist aber insofern bemerkenswert, als HARDER und v. WITSCH (1942) feststellten, daß eine Veränderung der photoperiodischen Reaktion bei *Kalanchoë* mit zunehmendem Alter der

Tabelle 6. *Zusammenstellung wichtiger Daten aus den Gruppen I—IX der Tabelle 5* (näheres im Text)

a	b	c	d	e	f
Gruppe	Photoinduzierte Blattfläche in cm² bei Versuchsbeginn (Mittelwert)	Verhältnis der Blattfläche bei Versuchsende zu jener bei Versuchsbeginn	Flächenunterschied in % zwischen der größten und kleinsten Gesamtblattfläche	Zeit in Tagen bis zur Blütenprimordienausbildung (Mittelwert)	Maximaler Altersunterschied in Tagen
I	2,6	8,3	181,8	19,6	19
II	3,4	6,4	158,6	17,8	19
III	4,2	5,8	347,9	17,2	32
IV	5,5	5,0	350,5	16,5	27
V	6,4	4,5	285,5	15,8	32
VI	7,5	3,9	154,0	16,0	24
VII	8,3	3,9	67,8	15,0	8
VIII	9,5	3,9	195,7	14,6	17
IX	11,0	3,2	95,3	13,0	10

Pflanzen eintritt. Es zeigte sich in ihren Versuchen, daß im höheren Alter die Pflanzen schon nach einer geringeren Anzahl von Kurztagsexpositionen induziert sind. Der wesentliche Unterschied in ihrer Versuchsdurchführung gegenüber unserer besteht nun darin, daß die Pflanzen mit allen ihren entfalteten Blättern der Kurztagsbehandlung ausgesetzt worden waren.

Sechs Wochen alte Pflanzen, ganz gleich, ob die beiden Autoren sie sofort nach dem Auflaufen 42 Kurztage ausgesetzt hatten oder erst eine unterschiedlich lange Zeit im Langtag wachsen ließen, um ihnen anschließend noch so viele Kurztagsexpositionen zu geben, daß insgesamt 42 Tage = 6 Wochen resultierten, blieben strikt vegetativ.

Auch die Pflanzen in unserem Versuch[1] waren nach 6 Wochen noch vegetativ. Nach nicht ganz 8 Wochen stellten wir dann bei den

[1] Der Aussaattermin lag in der Jahresperiode nur 8 Tage später als in dem Versuch von HARDER und v. WITSCH.

KT-Pflanzen die ersten eben erkennbaren makroskopischen Blütenstandsanlagen fest, 5 Tage danach ergab der mikroskopische Befund: 36,6% makroskopisch sichtbare Blüten, 43,9% mikroskopisch erkennbare Blütenstandsanlagen und 19,5% der Pflanzen befanden sich noch im vegetativen Stadium. Es waren dies zum größten Teil Pflanzen, die in ihrer Entwicklung etwas weiter zurück waren als die anderen. Zur selben Zeit, als die ersten Blüten bei den KT-Pflanzen sichtbar wurden, kam eine Serie Pflanzen aus der Langtag-Kultur, denen also nur 1 Blattpaar belassen worden war, in Kurztagsbehandlung. Diese Pflanzen wiesen, als sie nach 17 Kurztagsexpositionen präpariert wurden, Blütenstandsanlagen auf, von denen einige sich bereits in dem weiter differenzierten Stadium II befanden. Gleich alte (8 Wochen) vollbeblätterte Pflanzen, die HARDER und v. WITSCH 14 Kurztagsexpositionen ausgesetzt hatten, waren nicht induziert worden und hatten bis zum Februar des darauffolgenden Jahres, etwa $6^1/_2$ Monate später, noch keine Blüten angelegt.

HARDER und v. WITSCH beobachteten erstmalig Blütenbildung an Pflanzen, die 7 Kurztage in der 13. Lebenswoche erhalten hatten. Unsere in den Tabellen hier wiedergegebenen Resultate sind an Pflanzen gewonnen worden, die bei Versuchsbeginn 55 bis 84 Tage (= 12 Wochen) alt waren. Die Perceptionsfläche war, gemessen an der Gesamtblattfläche bei älteren Exemplaren, verschwindend klein (vgl. hierzu Tabelle 5). Sie wird selbst dann noch als klein bezeichnet werden müssen bei Berücksichtigung der Tatsache, daß an vollbeblätterten älteren Pflanzen als Folge unterschiedlicher physiologischer Alterung die Blätter bezüglich der Aufnahmefähigkeit des Lichtreizes einander nicht gleichwertig sind. Die photoperiodisch percipierende Fläche ist aber jedenfalls weitaus größer, als sie bei den Pflanzen unseres Versuches war.

B. Parallelversuche unter ausschließlichem Kunstlicht

In weiteren Versuchen wurden dann teils unter natürlichen Lichtverhältnissen im Gewächshaus, teils unter ausschließlichem Kunstlicht (2 Leuchtstofflampen HNP 40 W + 3 Glühbirnen 200 W) in einem Klimaraum Pflanzen noch höheren Lebensalters geprüft. Sie erhielten jetzt 7, 6 bzw. 5 Einwirkungen von Kurztagen und wuchsen anschließend im Langtag weiter. Nach insgesamt 20 Tagen (die Zahl der Kurztage ist darin einbegriffen) wurde präpariert. Die mikroskopische Kontrolle der Pflanzen, die erst bei Versuchsbeginn unter Kunstlicht kamen, erbrachte nur negative Ergebnisse, obgleich die stehengelassenen Blattpaare in der Größe etwa denen der Gewächshausexemplare entsprachen, die nach dieser Zeit bereits Blütenstandsanlagen aufwiesen. Ursache des negativen Ausfalls war die zu geringe Lichtintensität während der Kurztagsbehandlung. 2200 lx genügten offenbar nicht. Damit soll keinesfalls gesagt sein, daß bei dieser Beleuchtungsstärke ein photo-

periodischer Impuls nicht erteilt werden kann. Wir haben dies auch nicht nachgeprüft, weil es uns hier ja nur darauf ankam, daß die Länge der Versuchsdauer mit jener im Gewächshaus übereinstimmte und die Präparation am gleichen Tage erfolgen konnte wie bei den Gewächshauspflanzen.

Die Beleuchtungsstärke wurde daraufhin durch zusätzliche Installation von 4 Leuchtstofflampen HNI de Luxe Z 40 W auf etwa 5000 lx erhöht. Die Kurztagsbehandlung dehnten wir, um auf alle Fälle mit positiven Ergebnissen rechnen zu können — was dann auch zutraf — auf 10 Tage aus und präparierten wiederum nach 20 Tagen. Als nun bei einer $18^1/_2$ Wochen alten Gewächshauspflanzen-Serie nach 5 Kurztagscyclen nur noch an großblättrigen Versuchspflanzen Blütenprimordien festgestellt werden konnten, Pflanzen mit kleinen Perceptionsflächen aber nach 20 Tagen noch im vegetativen Zustand sich befanden, wurden weiterhin keine Versuchsanstellungen mehr im Gewächshaus durchgeführt, zudem Lichtmessungen ergaben, daß bereits an wolkenbedeckten Oktobertagen die Beleuchtungsstärke bis auf fast 5000 lx herabsinken konnte. Es erschienen uns dadurch die zu erwartenden unterschiedlich ausfallenden Ergebnisse, bedingt durch die fortschreitend sich ändernden herbstlichen Lichtverhältnisse, nicht gesichert genug, um sie bei der Beurteilung in Parallele setzen zu können mit den Resultaten der Sommermonate. Daher ist geplant, auch die unter Kunstlicht gewonnenen Ergebnisse nachzuprüfen an Pflanzen, die früher ausgesät werden, so daß 20 bis 24 Wochen alte Exemplare ebenfalls noch unter günstigen Tageslichtverhältnissen in den Versuch kommen.

Die nachfolgende Zusammenstellung (Tabelle 7) enthält die Daten der Versuche mit 18 Wochen alten *Kalanchoë*-Pflanzen aus dem Gewächshaus bzw. 22 Wochen alten unter ausschließlichem Kunstlicht. Die Gewächshauspflanzen waren nach 5 Kurztagscyclen in den Langtag gebracht worden, der durch Verlängerung des Normaltages auf 16 Std mit Leuchtstofflampenlicht erreicht wurde. Die Pflanzen im Kunstlichtfeld hatten 10 Kurz- und 10 Langtage erhalten. Die Gesamtblattfläche war bei letzteren nicht mehr ermittelt worden, weil an einigen Exemplaren die untersten Blätter schon abgefallen oder zumindest nicht mehr intakt waren. Größenordnungsmäßig kann mit 300 cm^2 Blattfläche gerechnet werden. An diesen Pflanzen ließen wir nicht, wie bisher üblich, das zweitjüngste Blattpaar stehen, sondern das nächst ältere am 3. Knoten unterhalb des Sproßgipfels, das ebenfalls noch im wachstumsfähigen Zustand war (s. Spalte b). Dabei mußte allerdings sehr darauf geachtet werden, daß die dazugehörigen, oftmals kaum erkennbaren Achselknospen stets sauber ausgekratzt wurden. Geschieht dies nämlich nicht, dann werden diese, deren Austrieb nunmehr stark gefördert ist, zuerst induziert und sehr viel später erst

die Gipfelknospe, wodurch wiederum nicht mehr einwandfrei vergleichbare Ergebnisse resultieren.

Alle 18 Wochen alten Gewächshauspflanzen waren nach 5 Kurztagscyclen blüteninduziert worden. HARDER und v. WITSCH konnten an 17 Wochen alten vollbeblätterten Pflanzen nach mindestens 4 Kurztagsexpositionen Blütenbildung feststellen. Wir haben zwar eine kürzere Induktionsdauer nicht mehr geprüft, doch spricht auch ohnedies der Befund dafür, daß in der vollbeblätterten Pflanze der hemmende Einfluß größer sein muß, da die wesentlich kleineren Perceptionsflächen an den weitgehend entblätterten Pflanzen in der Lage sind, den gleichen Effekt hervorzubringen.

Tabelle 7. *18 Wochen alte Kalanchoë-Pflanzen (Nr. 27—31) aus dem Gewächshaus und 22 Wochen alte (Nr. 73—83) bzw. 24½ Wochen alte (Nr. 93) unter ausschließlichem Kunstlicht* (Nähere Angaben im Text)

Protokoll-Nr.	a Photoinduzierte Blattfläche in cm² bei Versuchsbeginn	b Verhältnis der durchschnittlichen Blattfläche bei Versuchsende zu jener bei Versuchsbeginn	c Gesamtblattfläche in cm²
27	12,3	3,0	225,8
28	11,5	3,3	312,0
29	14,1	1,6	273,3
30	15,5	2,7	239,6
31	12,1	2,5	293,0
73	7,7	2,8	—
74	5,8	3,8	—
75	7,1	2,5	—
76	11,5	2,7	—
77	7,4	3,2	—
78	6,7	3,6	—
79	6,6	3,6	—
80	8,6	2,9	—
81	6,4	3,4	—
82	7,2	4,0	—
83	6,2	4,5	—
93	8,3	3,6	—

Besprechung der Ergebnisse

Seit den Untersuchungen von LONA (1947) und ZIERIACKS (1952) ist bekannt, daß Pflanzen selbst im Keimblattstadium nach einer entsprechend langen photoperiodischen Einwirkung zur Blüte kommen, wenn ihnen laufend alle Folgeblätter abgeschnitten werden. Wohl ist eine Mindestblattfläche zur Perception des Blühimpulses erforderlich, so daß Pflanzen mit sehr kleinen Kotyledonen dazu nicht in der Lage sind. Warum vollzieht sich jedoch bei Pflanzen, die sofort nach dem Auflaufen in der blüteninduzierenden Tageslänge aufwachsen, die Umstimmung des Vegetationspunktes erst nach einer relativ langen Zeit?

Dann ist die erforderliche Mindestblattfläche meist schon um ein Vielfaches überschritten, wenn den Pflanzen keine Blätter abgenommen worden sind. So fand ZIERIACKS in ihren Untersuchungen, daß die vollbeblätterten *Cosmos bipinnata*-Pflanzen, die 7,4 Laubblätter im Durchschnitt entfaltet hatten, 41,9 Tage bis zum Sichtbarwerden ihrer Inflorescenzen brauchten, während die Pflanzen mit nur 2 Keim- (Kbl.) und 2 Primärblättern (Prbl.) bereits nach 43,6 Tagen, also nur 1,7 Tage später, in ihrer Entwicklung schon ebenso weit waren. Bei den *Anethum*-Kontrollpflanzen mit durchschnittlich 4,6 Laubblättern werden die Blüten sogar später sichtbar, und zwar nicht nur bei den Pflanzen mit 2 Kbl. + 2 Prbl., sondern auch bei jenen mit 2 Kbl. und nur 1 Prbl. Ebenfalls erscheinen die Inflorescenzen etwas früher (0,6 Tage) bei den *Calendula*-Pflanzen mit 2 Kbl. + 2 Prbl. als bei den dazugehörigen Kontrollen, die im Mittel 14,1 Laubblätter (!) pro Pflanze tragen.

Die Keimlingspflanze also, die unter bestimmten Voraussetzungen schon zur Blütenbildung übergehen kann, muß selbst unter optimalen Umweltsbedingungen bei günstiger Photoperiode erst eine Zeitlang vegetativ weiterwachsen, bis sie den blühreifen Zustand erlangt hat. Die Tatsache, daß die Pflanze bereits im Keimblattstadium in die reproduktive Phase eintreten kann, zeigt, daß die Voraussetzung dafür keinesfalls eine Anhäufung organischen Materials sein dürfte. Selbst wenn man sich noch auf den alten Standpunkt stellt und das immer noch hypothetische Blühhormon als das allein verantwortliche Agens für die Umstimmung des Vegetationspunktes betrachtet, so nimmt es doch wunder, daß die kleinen Kotyledonen bereits die ausreichende Menge eines solchen Stoffes zu produzieren vermögen, während die heranwachsende Jungpflanze, die mit ihren entfaltenden Laubblättern ständig ihre Perceptionsfläche vergrößert, eine derart lange Zeit benötigt, um diese erforderliche Mindestsubstanzmenge zu erreichen. Wäre da nicht eher anzunehmen, daß die Substanz, die letztlich das vegetative Meristem in ein florales umzuwandeln vermag, einreguliert wird, also erst dann zur Wirkung kommen kann, wenn seine Menge zu der des hemmenden Stoffes ein für die jeweils betreffende Art oder Gattung bestimmtes Verhältnis erreicht hat, was genetisch fixiert sein dürfte?

BÜNNING (1952) stellte auf Grund von Beobachtungen an Tropenpflanzen fest, daß junge Blätter in ihrem Bereich die Blütenbildung hemmen. Seiner Meinung nach kann diese Hemmung aufgehoben werden entweder dadurch, daß die Blätter in einem ausreichend großen Bereich abfallen bzw. alt werden oder aber durch den photoperiodischen Reiz. Es ist dann jedoch überraschend, daß die Induktionswirkung bei Samenpflanzen, die vom ersten Tage ihres Lebens an den photoperiodischen Reiz erhalten, erst realisierbar wird, wenn eine ge-

wisse Anzahl von Laubblättern entfaltet ist. Wenn die Pflanzen in das blühreife Stadium kommen, sind die dann vorhandenen Blätter natürlich verschieden alt, so daß sich entsprechend der Insertionshöhe an der Sproßachse neben bereits vollkommen ausgewachsenen Blättern auch noch solche finden, die ihr Wachstum noch nicht abgeschlossen haben. Wie unsere Versuche an *Kalanchoë* zeigten, gelangten Pflanzen mit weniger stark wachsenden Blattspreiten rascher in das Blühstadium als Pflanzen, deren Blätter noch intensiv wachsen. Intensives Wachstum wirkt irgendwie verzögernd auf die Blütenbildung. Nun legt die aus dem Samen hervorgehende Pflanze, besonders in den ersten Wachstumsstadien, ein Blatt nach dem anderen an, und zwar gewöhnlich in der Weise, daß das neue Blatt sich schon zu entfalten beginnt, noch ehe das vorangegangene ausgewachsen ist. Wahrscheinlich ist diese Periode lebhaften Wachstums mit eine der Ursachen, warum es noch nicht zur Umstimmung der vegetativen Differenzierungsphase kommen kann, selbst dann nicht, wenn die Pflanze sich sofort nach dem Auflaufen in der blüteninduzierenden Tageslänge befindet. Das vegetative Wachstum kommt anscheinend erst dann zum Stillstand, wenn die Gesamtblattfläche nicht mehr nur aus wachsenden, zumindest nicht mehr aus intensiv wachsenden Blättern besteht. Freilich ist das eine Feststellung, die sich nur auf visuelle Beobachtung stützt. Was sich aber an stofflichen Veränderungen während der Entfaltung der Blätter und nach Abschluß des Flächenwachstums in den Blättern abspielt, darüber wissen wir noch sehr wenig.

Durch neuere Untersuchungen ist bekannt, daß Gibberelline nicht nur Zellteilung und Zellstreckung fördern, sondern auch Blütenbildung auslösen. Dies wurde aus Untersuchungen an Langtag- und kältebedürftigen Pflanzen (Lang 1956a, b, c; Bünsow u. Harder 1956 a, b; Okuda 1958; Sarkar 1958) geschlossen. Von keinem der anderen Wuchsstoffe — IES oder Kinetin — ist eine solche Funktion bekannt. Daß IES auf die Geschwindigkeit der Vorgänge des Blühgeschehens Einfluß nimmt, konnte von einer Reihe von Forschern nachgewiesen werden. Tschailachjan (1958) folgert auf Grund seiner experimentellen Befunde an LT- und KT-Pflanzen, daß die Gibberelline, die keine Beschleunigung der Blütenbildung bei KT-Pflanzen hervorzurufen vermögen, lediglich für die Bildung und das Wachstum des Stengels nötig sind. Die Versuche zeigten ferner, daß die Gibberelline in den Blättern weder bei Langtags- noch bei Kurztagsbedingungen Umsetzungen erfahren. Kuse (1958) hingegen stellte in seinen Untersuchungen an Süßkartoffel-Stecklingen (*Ipomoea batates* var. Norin) fest, daß eine Förderung der Streckung des Blattstiels durch Gibberelline nur dann zutage trat, wenn die Blattfläche vorhanden war oder nach deren Entfernung die Wuchsstoffproduktion derselben durch IES-Zufuhr ersetzt wurde. Vielleicht

spielt bei diesen Vorgängen auch der physiologische Zustand des Blattes, als Blatt„alter" schlechthin charakterisiert, eine Rolle. Es wäre durchaus denkbar, daß die Gibberelline erst dann in die Produktion der Blühhormone eingeschaltet werden, wenn die Funktion der IES im Blatt erlischt. MOSCHKOV (1936b) wies darauf hin, daß das gerade vollausgewachsene Blatt für die photoperiodische Induktion am empfindlichsten ist, was BORTHWICK und PARKER 1940 bestätigen konnten. Einschränkend ist aber festzustellen, daß dies für *Xanthium* nicht zutrifft (NAYLOR 1941).

Wenn vollbeblätterte Pflanzen verschiedener Altersstadien nach nichtinduktiver Tageslänge auf den photoperiodischen Reiz verschieden schnell mit der Blütenausbildung reagieren, dann wäre die Möglichkeit in Erwägung zu ziehen und zu prüfen, ob die Ursache nicht in einem verschieden hohen Verhältnis junger sich entfaltender Blätter zu bereits ausgewachsenen Blättern zu suchen ist. Allerdings muß dabei noch berücksichtigt werden, daß der Anteil der ausgewachsenen Blätter sich aufgliedert in solche, die maximale photoperiodische Reaktion zeigen, und solche, die infolge Überalterung den photoperiodischen Reiz nicht mehr aufnehmen können. An 8 Wochen alten *Kalanchoë*-Pflanzen aus der Langtagskultur stellten wir eine Gesamtblattfläche von 40—50 cm^2 fest. Zieht man von dieser etwa 8 cm^2 ab, die auf die Fläche der zu Beginn der Kurztagsbehandlung bereits ausgewachsenen Keim- und Primärblätter entfallen, so verbleibt immerhin noch eine Blattfläche von etwa 32—42 cm^2 in noch wachstumsfähigem Zustand. Mit einer Blattfläche annähernd gleicher Größenordnung muß auch bei gleich alten Pflanzen in den Versuchen von HARDER und v. WITSCH gerechnet werden. Trotzdem vermochten dort aber 14 Kurztagsexpositionen nicht den Gipfelvegetationspunkt umzustimmen, während in unseren Versuchen Blattflächen von 6,4—7,9 cm^2 dies schon bewirkten. In der aus verschieden stark wachsenden Einzelblättern resultierenden Gesamtblattfläche von 32—42 cm^2 hatte sich offenbar auch die blühhemmende Wirkung summiert. Man ist daher wohl berechtigt anzunehmen, daß eine Verschiebung der beiden Größen, nämlich der wachsenden zur nicht mehr wachsenden Blattmasse, eine Änderung in der photoperiodischen Reaktion bedingt, da unsere vorliegenden Versuchsergebnisse — soweit sie bis jetzt geprüft werden konnten — eine Abhängigkeit von der Höhe des Lebensalters nicht erkennen lassen.

Zusammenfassung

Perceptionsorgan des photoperiodischen Reizes, der die Umstimmung des vegetativen Meristems in das florale bewirken kann, ist bekanntlich das Blatt. Die Bedeutung seiner Größe und damit die der Perceptionsfläche für die Blüteninduktion wird an einer Graminee,

ACKERMANNs *Isaria*-Gerste, untersucht, weil deren Vegetationskegel bzw. ihre embryonalen Inflorescenzen infolge ihrer fein abgestuften Differenzierung sich dafür als besonders geeignet erweisen.

An *Kalanchoë bloßfeldiana* als Dikotylen-Vertreter wird in entsprechender Weise die Größe der Perceptionsfläche physiologisch gleich alter Blätter bei Pflanzen von verschieden hohem Lebensalter eingehender analysiert.

1. Die Versuche mit ACKERMANNs *Isaria*-Gerste wurden ausschließlich in einem Klimaraum durchgeführt, um reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen.

Der starke Einfluß von Licht und Wärme auf den Entwicklungsverlauf machte es erforderlich, bei einer jeweils gewählten Strahlungsintensität und relativen Luftfeuchtigkeit den Temperaturbereich zu ermitteln, der für die Anzucht der Versuchspflanzen besonders günstig ist.

Die Gersten-Keimpflanzen wurden unter verschieden langen Photoperioden herangezogen. Als Test diente der Entwicklungszustand des Vegetationskegels.

Dieser erweist sich eindeutig abhängig von der entfalteten perceptionsfähigen Blattfläche.

Zunehmende Tageslänge beschleunigt die Laubblattentfaltung und fördert somit auch die Entwicklung des Vegetationskegels.

2. Die Versuche mit *Kalanchoë bloßfeldiana* wurden z.T. im Gewächshaus, z.T. im Klimaraum durchgeführt.

Kalanchoë-Pflanzen aus der Langtagsvorkultur wurden in verschiedenem Lebensalter der KT-Induktion ausgesetzt, nachdem sie bis auf das zweitjüngste Blattpaar unterhalb des Sproßgipfels entlaubt worden waren.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß a) der hemmende Einfluß, den die unter nicht-blüteninduzierender Tageslänge gewachsenen Blätter auf die Blütenbildung ausüben, verlorengeht, wenn diese Blätter entfernt werden; b) die photoperiodische Reaktion der Pflanze nicht wesentlich vom Alter des Individuums abhängig ist, sondern ganz entscheidend von der Größe der perceptionsfähigen Blattfläche.

Es wird auf Grund der Ergebnisse erörtert, daß das unterschiedliche photoperiodische Verhalten vollbeblätterter Pflanzen mit zunehmendem Alter — worüber HARDER und v. WITSCH berichteten — entscheidend durch das in der Gesamtblattfläche sich ändernde Verhältnis der wachsenden zur nicht mehr wachsenden Blattfläche bedingt ist.

Die Untersuchungen wurden z.T. mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft ausgeführt, der an dieser Stelle für die gewährte Hilfe gedankt sei.

Literatur

BORTHWICK, H. A., and M. W. PARKER: Floral initiation in Biloxi soybeans as influenced by age and position of leaf receiving photoperiodic treatment. Bot.

Gaz. **101**, 806—817 (1940). — Bünning, E.: Über die Ursachen der Blühreife und Blühperiodizität. (Mit besonderer Berücksichtigung von Beobachtungen in den Tropen.) Z. Bot. **40**, 293—306 (1952). — Bünsow, R., u. R. Harder: Blütenbildung von *Bryophyllum* durch Gibberellin. Naturwiss. **43**, 479 (1956a). — Blütenbildung von *Lapsana* durch Gibberellin. Naturwiss. **43**, 527 (1956b) — Harder, R.: Über photoperiodisch bedingte Organ- und Gestaltsbildung bei Pflanzen. Naturwiss. **33**, 41—49 (1946). — Harder, R., u. H. v. Witsch: Über die Einwirkung von Kurztagsblättern auf im Langtag befindliche Blätter und Stengelteile der gleichen Pflanze. Untersuchungen zur Frage nach einem formbeeinflussenden Wirkstoff. Planta (Berl.) **31**, 523—558 (1940/41). — Wirkung von Photoperiodismus und Yarowisation auf die Blütenbildung von *Kalanchoë bloßfeldiana*. Gartenbauwiss. **15**, 226—246 (1941). — Weitere Untersuchungen über die Veränderung der photoperiodischen Reaktion von *Kalanchoë bloßfeldiana* mit zunehmendem Alter der Pflanzen. Planta (Berl.) **32**, 547—557 (1942). — Kuse, G.: Necessity of auxin for the growth effect of gibberellin. Bot. Mag. (Tokyo) **71**, 151—159 (1958). — Lang, A.: Stem elongation in a rosette plant induced by gibberellic acid. Naturwiss. **43**, 257—258 (1956a). — Induction of flower formation in biennial *Hyoscyamus* by treatment with gibberellin. Naturwiss. **43**, 284—285 (1956b). — Gibberellin and flower formation. Naturwiss. **43**, 544 (1956c). — Lona, F.: Sul comportamento fotoperiodico di alcune specie di *Xanthium*. Brevidiurne che fioriscono a luce continua. Nuovo G. bot. ital., N. s. **53**, 635—656 (1947). — Moschkov, B. S.: Die Rolle der Blätter in der photoperiodischen Reaktion der Pflanze [Russisch]. Bull. appl. Bot., Ser. A **17**, 25—30 (1936). — Muschik, M.: Entwicklungsmorphologische Studien am Vegetationskegel von *Hordeum distichum* (Ackermanns *Isaria*-Gerste) in Abhängigkeit von Tageslänge und Lichtintensität. Planta (Berl.) **49**, 598—606 (1957). — Naylor, A. W.: Effect of nutrition and age on development of flowers of *Xanthium*. Bot. Gaz. **103**, 342—353 (1941). — Okuda, M.: Flower promoting effect of gibberellin in *Erigeron annuus*. Bot. Mag. (Tokyo) **71**, 125 (1958). — Sarkar, S.: Versuche zur Physiologie der Vernalisation. Biol. Zbl. **77**, 1—49 (1958). — Tschailachjan, M. Ch.: On the mechanism of photoperiodic reaction. C. R. Acad. Sci. URSS. 1 (X), H. 2, 89—93 (1936a). — Über den Mechanismus der photoperiodischen Reaktion [Russisch]. Dokl. Akad. Nauk. SSSR. I (X), 2 (79), 85—90 (1936b). — Hormonale Faktoren des Pflanzenblühens. Biol. Zbl. **77**, 641—662 (1958). — Ullrich, H.: Photoperiodismus und Blühhormone. Ber. dtsch. bot. Ges. **57**, (40)—(52) (1939). — Waard, J. de, u. J. W. M. Roodenburg: Premature flower-bud initiation in tomato-seedlings caused by 2,3,5-triiodibenzoic acid. Proc. kon. ned. Akad. Wet. **51**, 248—251 (1948). — Zieriacks, H.: Über Blüteninduktion durch Keim- und Primärblätter. Biol. Zbl. **71**, 210—238 (1952).

Dr. Margarete Muschik,
Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn,
Meckenheimer Alle 176

Planta 53, 595—601 (1959)

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Köln-Vogelsang,
Abteilung für Plasmavererbung

EIN BEITRAG ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON NUCLEINSÄUREN IN GRÜNEN BLÄTTERN*

Von
HARTMUT KERN

(Eingegangen am 23. Juni 1959)

Die Bedeutung, die man heute den Nucleinsäuren (NS) beimißt, hat zu zahlreichen biochemischen Untersuchungen Anlaß gegeben. Zur quantitativen Bestimmung der NS bei pflanzlichem Material wird sehr oft die von OGUR und ROSEN (1950) entwickelte Methode herangezogen. Die hierbei erfolgende Extraktion der NS mit Perchlorsäure (PCS) und die Möglichkeit, auf spektralphotometrischem Wege noch sehr geringe Mengen zu erfassen, mag ausschlaggebend sein für die Beliebtheit dieser Methode.

Im Rahmen biochemischer Untersuchungen an den Blättern verschiedener Plasmotypen der Gattung *Epilobium* unter der von MICHAELIS (1954) aufgeworfenen Fragestellung sind unter anderem auch quantitative Nucleinsäurebestimmungen vorgesehen. Die Vorzüge der erwähnten Methode — leichte Handhabung, geringe Ausgangsmengen an Pflanzenmaterial — veranlaßten uns, diese Methode auf ihre Anwendbarkeit zu prüfen, worüber hier berichtet werden soll.

Im Prinzip wird bei dieser Methode das betreffende Material zerkleinert und durch Behandlung mit Äthanol, Äther-Äthanol und verdünnter Perchlorsäure (0,2 n) von allen Substanzen befreit, die die UV-Absorption der nachfolgenden NS-haltigen Perchlorsäureextrakte stören. Nach der Originalvorschrift soll durch Behandlung des so aufbereiteten Materials mit kalter 1 n PCS (18 Std, $+4^0$ C) allein die Ribonucleinsäure (RNS) und durch die anschließende heiße Extraktion des Rückstandes mit 0,5 n PCS (20 min, 70^0 C) nur die Desoxyribonucleinsäure (DNS) quantitativ erfaßt werden. Die Vollständigkeit dieser Fraktionierung wird von verschiedener Seite angezweifelt (DI STEFANO 1952, HEILINGER 1954, MARKHAM 1955 u.a.). Deshalb verzichtet man oft auf diese Trennung, extrahiert beide NS gemeinsam mit heißer PCS (z.B. JAGENDORF und WILDMAN 1954), um dann RNS und DNS nebeneinander zu bestimmen. Weiter muß hervorgehoben werden, daß OGUR und ROSEN ihre Methode vornehmlich an Zwiebelwurzeln getestet haben. Es ist daher nicht zu erwarten, daß diese Methode auf jedes beliebige Material

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

ohne weiteres angewendet werden darf. Offensichtlich liegen bei grünen Blättern besondere Verhältnisse vor, die eine Abwandlung der Originalmethode erfordern. So erhöhte z. B. MCCLENDON (1952) die Perchlorsäurekonzentration von 0,5 auf 1 n zur DNS-Extraktion (vgl. auch HOLDEN 1952).

In eigenen Versuchen an *Epilobium*-Blättern wurde auf eine Trennung beider NS-Typen verzichtet und durch Behandlung des aufbereiteten Materials (s. unten) mit heißer 0,5 n PCS (30 min, 70° C) RNS und DNS gemeinsam herausgelöst. In diesen Extrakten wurde DNS colorimetrisch (BURTON 1956) bestimmt und RNS aus Extinktionsmessungen bei der Wellenlänge 260 mμ berechnet[1]. Auf Grund zweier Beobachtungen wurde die Vollständigkeit dieser NS-Extraktion fragwürdig:

1. Wird der Extraktionsrückstand mit dem Diphenylaminreagens nach BURTON (1956) — es reagiert mit dem Desoxyzucker der DNS — suspendiert, so tritt die für DNS typische Blaufärbung auf.

2. Behandelt man den Extraktionsrückstand mit konzentrierterer PCS (1; 2 oder 3 n) 30 min bei 70° C, so weisen die UV-Absorptionsspektren dieser Extrakte ausgeprägte Maxima zwischen 265 und 275 mμ auf. Werden Test-Nucleinsäuren der gleichen Behandlung unterworfen (30 min bei 70° C in 0,5; 1 n usw. PCS), so bleibt das Absorptionsmaximum der RNS-Lösung (RNS aus Hefe, Merck) trotz verschiedener PCS-Konzentration unverändert bei 259—260 mμ. Dagegen verschiebt sich das Absorptionsmaximum der DNS-Lösungen (DNS aus Sperma, Bayer) von 260 mμ in 0,5 n PCS bei Erhöhung der Perchlorsäurekonzentration bis 265 mμ. Diese gleichsinnige Verschiebung der UV-Spektren kann jedoch nur mit Vorbehalt als weiterer Hinweis für das Vorhandensein von DNS im Rückstand nach erfolgter 0,5 n PCS-Behandlung gewertet werden, da auch mit der Gegenwart anderer Stoffe — Hydrolyseprodukte von Eiweißstoffen — gerechnet werden muß.

Diese Feststellungen waren Grund genug, quantitative DNS-Bestimmungen durchzuführen, wobei geprüft werden sollte, ob tatsächlich durch Erhöhung der PCS-Konzentration auch der DNS-Gehalt in den Extrakten ansteigt. Zu diesem Zwecke wurden vom gleichen Blattmaterial parallel Extrakte mit 0,5 bzw. 2 n Perchlorsäure hergestellt und deren Gehalt an DNS bestimmt. Wie Vorversuche zeigten, genügt eine Erhöhung der PCS-Konzentration auf 2 n. Unabhängig davon wurden außerdem DNS-Bestimmungen in Anlehnung an SCHMIDT und THANNHAUSER (1945) durchgeführt. Diese Methode basiert darauf, daß bei basischer Hydrolyse von Gewebe beide NS-Typen extrahiert werden, RNS dabei zu Mononucleotiden abgebaut wird, während DNS makro-

[1] Über die Verläßlichkeit solcher Extinktionsmessungen für die quantitative NS-Bestimmung wird gesondert berichtet.

molekular bleibt und bei Ansäuerung des Hydrolysates im Gegensatz zu den RNS-Spaltprodukten ausfällt. Durch Behandlung des Blattmaterials *(Epilobium)* mit 1 n Kalilauge (18 Std bei 37° C im Thermostaten) werden sämtliche Nucleinsäuren extrahiert. Dieser Schluß kann auf Grund der Feststellung gezogen werden, daß nach einer solchen basischen Hydrolyse die aus dem abzentrifugierten Rückstand gewonnenen Perchlorsäureextrakte (2 n) nur sehr geringe und zudem unspezifische UV-Absorption zeigen.

Methodisches

1. Aufarbeitung. Frische Blätter von *Epilobium hirsutum* Essen werden kurz in kochendes Äthanol getaucht zur Inaktivierung der Fermente — besonders der Nucleasen — und dann in kaltem 70%igem Äthanol homogenisiert.

Das zerkleinerte Blattmaterial wird abgenutscht oder -zentrifugiert und nacheinander mit 70%igem Äthanol, 70%igem Äthanol + 0,1% Perchlorsäure und 96%igem Äthanol behandelt. Hierdurch werden Purine, Nucleotide, Aminosäuren, Zucker und andere UV-absorbierende Substanzen entfernt.

Der Rückstand wird mit einem siedenden Gemisch von Äther-Äthanol (1:3 v/v) behandelt. Diese Lipoidextraktion wird bis zur völligen Entfärbung des Materials durchgeführt. In der Regel ist dies nach dreimaliger Extraktion (je 5 min) der Fall. Dann wird mit 96%igem Äthanol nachgewaschen und das nun grau-weiße Material viermal mit 0,2 n Perchlorsäure in 50%igem Äthanol extrahiert. Hierbei gehen Stoffe in Lösung, deren UV-Absorptionsmaximum bei 266 mμ liegt. Da eine Verschleppung dieser Substanzen in die Nucleinsäurefraktion die auf Extinktionsmessung beruhende NS-Bestimmung verfälschen würde, muß dieser Präparationsstufe besondere Beachtung geschenkt werden. Diese Behandlung erfolgt — wie alle vorausgegangenen Prozeduren (mit Ausnahme der Lipoidextraktion) — in der Kälte und möglichst rasch, um eine Hydrolyse der NS zu säurelöslichen Bruchstücken zu verhindern.

Danach wird mit Äthanol (96%ig) und schließlich mit Äther nachgewaschen. Diese Ätherbehandlung soll erstens die Trocknung des Materials erleichtern und zweitens restliche Lipoide entfernen. Anschließend wird das Präparat im Vakuum getrocknet.

2. NS-Extraktion. a) Eingewogene Mengen der Trockensubstanz (TS) werden in Zentrifugengläsern mit der jeweiligen Perchlorsäure (0,5 bzw. 2 n) 30 min in einem Wasserbad von 70° C extrahiert. Der abzentrifugierte Rückstand wird nochmals 10 min in gleicher Weise behandelt. Die vereinigten Extrakte werden mit Perchlorsäure auf ein bestimmtes Volumen (10 ml Meßkölbchen) aufgefüllt.

b) Trockensubstanz wird 18 Std mit 1 n Kalilauge bei 37° C im Thermostaten hydrolysiert. Dann wird abzentrifugiert und der Rückstand mit Kalilauge nachgewaschen. Diese Extrakte werden miteinander vereinigt und mit PCS neutralisiert. Der weiße Niederschlag von $KClO_4$ wird abzentrifugiert und kurz mit schwacher ammoniakalischer Lösung nachgewaschen. Diese Waschflüssigkeit wird zur eben neutralisierten Lösung zugefügt. Diese Flüssigkeit wird in der Kälte mit dem gleichen Volumen 96%igem Äthanol versetzt und mit Eisessig auf p_H 4 gebracht. Nach 2 Std (Aufbewahrung im Kühlschrank) wird der Niederschlag abzentrifugiert, einmal mit 70%igem Äthanol + 0,1% PCS gewaschen und dann der DNS-Extraktion durch 0,5 n PCS (s. unter a) unterworfen.

Die DNS-Bestimmungen erfolgen nach der Methode von Burton (1956), die Phosphorbestimmungen nach Berenblum und Chain (1938). Bei den DNS-Be-

stimmungen ist es notwendig, die Eichkurve (DNS aus Sperma, Bayer) für die jeweilige PCS-Konzentration zu korrigieren. Bei Verwendung 2 normaler Perchlorsäure sinkt nämlich im Vergleich zu 0,5 normaler die Intensität der Blaufärbung mit Diphenylamin um etwa 30%.

Ergebnisse

In folgender Tabelle sind die Meßergebnisse einer Analysenreihe zusammengestellt.

Tabelle

Analysen Nr.	Konzentration PCS	Einwaage (TS) mg	DNS γ	% DNS in TS	% NS—P in TS	% Ges.-P in TS
a	0,5 n	98,05	84	0,085		
b	0,5 n	116,4	94	0,080	0,112	
c	0,5 n	115,1	94	0,081		
d	0,5 n	91,9	82	0,089		0,143
e	2,0 n	116,0	242	0,208		
f	2,0 n	102,7	216	0,210	0,135	
g	2,0 n	102,7	216	0,210		
h	2,0 n	105,9	236	0,222		

Die DNS-Bestimmungen werden in den Analysen a—d mit 0,5 n und in den Analysen e—h mit 2 n PCS-Extrakten durchgeführt. Die gemessenen Mengen an DNS werden prozentual auf die eingewogene Trokkensubstanz (TS) bezogen. Als NS-P (Nucleinsäurephosphor) wird der in den Perchlorsäureextrakten vorhandene und als Ges.-P (Gesamtphosphor) der nach nasser Veraschung (70%ige PCS) von Trockensubstanz nachweisbare Phosphor bezeichnet. Bei den in der Tabelle angeführten Phosphormengen handelt es sich um die Mittelwerte von je 6 Bestimmungen.

Aus dem Vergleich beider Analysengruppen (a—d und e—h) ergibt sich parallel zur Erhöhung der Perchlorsäurekonzentration eine wesentliche Zunahme diphenylaminpositiver Substanzen und ein Anstieg des Phosphorgehaltes in den Extrakten.

Wenn man das Vorliegen einer Nucleinsäure durch den Nachweis aller NS-Bausteine — Phosphorsäure, Zuckerkomponente und Basen — wahrscheinlich machen kann, dann bleibt nur noch der Nachweis der UV-absorbierenden Purin- bzw. Pyrimidinbasen. Dieser dritte Beweis dafür, daß nach erfolgter Extraktion mit 0,5 n Perchlorsäure noch DNS im Rückstand verbleibt, wurde spektrophotometrisch erbracht. Aus basischen Hydrolysaten (s. oben) von Material, das bereits mit 0,5 n PCS behandelt worden war, ließ sich nach Ansäuerung ein Niederschlag gewinnen, der — wie oben unter b beschrieben — mit 0,5 n PCS extrahiert wurde. Diese Extrakte wiesen ein Absorptionsmaximum bei 256 mμ auf und unterschieden sich hierin nicht von denen, die auf

gleiche Weise — ebenfalls aus DNS-Fällungen nach basischer Hydrolyse — *unmittelbar* aus Trockensubstanz gewonnen wurden. Auf Grund dieser Befunde darf man die Stoffe, die mit 2 n Perchlorsäure in größeren Mengen extrahiert werden, als DNS ansprechen.

Quantitative DNS-Bestimmungen am gleichen Trockenmaterial, jedoch nach basischer Hydrolyse und DNS-Fällung (s. oben unter b) ergaben einen durchschnittlichen Gehalt von 0,121% DNS. Beim Vergleich mit den in der Tabelle aufgeführten Meßwerten liegt dieser DNS-Gehalt höher als in den Analysen a—d, jedoch wesentlich tiefer als in den Analysen e—h. Diese Unstimmigkeit könnte durch eine unvollständige Ausfällung der diphenylaminpositiven Substanzen erklärt werden. Wieweit der Anstieg des „NS-P"-Gehaltes der Extraktion von DNS durch 2 n PCS parallel läuft, ist schwer zu entscheiden. Nach Ogur und Rosen ist der nach erfolgter NS-Extraktion durch Perchlorsäure im Rückstand verbleibende Phosphor an Phosphoproteinen gebunden. Der Anstieg des Phosphorgehaltes in den 2 n PCS-Extrakten ist gleichbedeutend mit dem Absinken des „Rest-Phosphors". Dieser errechnet sich aus der Differenz zwischen Gesamt-Phosphor und extrahiertem „NS-P". Legt man einer Überschlagsrechnung eine DNS mit 8% P-Gehalt zugrunde, so beträgt die Zunahme des P-Gehaltes in den 2 n PCS-Extrakten ungefähr das Doppelte, als sie nach den gemessenen DNS-Mengen zu erwarten wäre. Vermutlich wird durch diese Säurebehandlung auch ein Teil des an Phosphoproteine gebundenen Phosphors abgespalten.

Es wurde ferner geprüft, ob parallel zum DNS-Gehalt in den 2 n PCS-Extrakten auch der der RNS ansteigt. Bei Anwendung der RNS-Bestimmungsmethode von Webb (1956) ließ sich immer ein höherer Gehalt an bromphenylhydrazinpositiver Stoffe feststellen. Da aber Pentosane und Polyuronsäuren (Chibnall 1939) ebenfalls diese Reaktion geben, spricht die größere Intensität dieser Reaktion in den 2 n PCS-Extrakten nicht unbedingt auch für einen höheren RNS-Gehalt. Tatsächlich konnte auf spektralphotometrischem Wege nach der Methode von Cox (1957) kein Hinweis für das Vorhandensein von RNS gewonnen werden, wenn das Material vorher mit 0,5 n Perchlorsäure behandelt worden war.

Die hier beschriebenen Ergebnisse sind wahrscheinlich nicht nur auf die Verhältnisse bei Blättern von *Epilobium* beschränkt. In Versuchen mit Blättern anderer Pflanzen (*Nicotiana tabacum* Samsun, *Allium cepa*, *A. porrum*, *Pelargonium zonale* und *Phaseolus multiflorus*) wurden bei gleicher Aufarbeitung in den 2 n PCS-Extrakten — nach vorangegangener Behandlung mit 0,5 n PCS — Absorptionsverhältnisse im UV-Licht festgestellt wie sie eingangs unter Punkt 2 beschrieben wurden. Auch Punkt 1 — der positive Ausfall der Diphenylaminreaktion am Rück-

stand nach 0,5 n PCS-Extraktion — ließ sich bei Blättern von *Phaseolus multiflorus* bestätigen.

Es dürfte somit hinreichend bewiesen sein, daß die im Rahmen der Methode von OGUR und ROSEN erfolgende NS-Extraktion zumindest bei Blattmaterial von *Epilobium* unvollständig ist. Daß hierbei nicht die gesamte DNS erfaßt wird, konnte auf zwei voneinander unabhängigen Wegen gezeigt werden. Diese Befunde könnten aber durch neuere Untersuchungen von CHIBA und SUGAHARA (1957) besondere Bedeutung erlangen. Diese Autoren weisen in isolierten Chloroplasten Nucleinsäuren in etwa 10facher Höhe nach gegenüber den Bestimmungen von JAGENDORF und WILDMAN (1954). Auch sie erhöhen die Perchlorsäurekonzentration auf 2 n und können dadurch DNS in solchen Mengen nachweisen, daß sie sie als realen Bestandteil der Chloroplasten ansprechen. In eigenen Untersuchungen (KERN 1956, 1959) konnte der eindeutige Nachweis von DNS in isolierten Chloroplasten — vermutlich infolge zu geringer Ausgangsmengen — nicht geführt werden. Jedoch wird die Feststellung, daß nach Behandlung der isolierten Chloroplasten mit heißer 1 n Perchlorsäure im Extraktionsrückstand noch purin- und pyrimidinartige Stoffe zu finden sind, durch die Befunde dieser Autoren bestätigt. Wenn nachgewiesen werden könnte, daß diese mit 2 n Perchlorsäure extrahierbare DNS *nur* in den Chloroplasten vorkommt und durch Behandlung des Blattmaterials mit heißer 0,5 n PCS die *gesamte* nichtplastische — an den Zellkern gebundene — DNS erfaßt wird, dann bestände die Möglichkeit einer indirekten Bestimmung der „Plastiden-DNS".

Auf diese Möglichkeit aufmerksam zu machen und vor einer kritiklosen Anwendung der Methode von OGUR und ROSEN zu warnen, ist Zweck dieser Veröffentlichung.

Zusammenfassung

An Blattmaterial von *Epilobium* wird gezeigt, daß die im Rahmen der Methode von OGUR und ROSEN (1950) erfolgende Extraktion der Nucleinsäuren unvollständig ist und hierbei erhebliche Mengen Desoxyribonucleinsäure (DNS) unberücksichtigt bleiben. Durch Extraktion mit konzentrierterer Perchlorsäure (2 n gegenüber 0,5 n) ebenso wie nach basischer Hydrolyse sind größere DNS-Mengen nachweisbar. Unter Hinweis auf Untersuchungen von CHIBA und SUGAHARA (1957) wird auf Anwendungsmöglichkeiten der Untersuchungsergebnisse aufmerksam gemacht.

Literatur

BERENBLUM, I., and E. CHAIN: An improved method for the colorimetric determination of phosphate. Biochem. J. **32**, 295—298 (1938). — BURTON, K.: A study of the conditions and mechanism of the diphenylamin reaction for the

colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. Biochem. J. **62**, 315—323 (1956). — CHIBA, Y., and K. SUGAHARA: The nucleic acid content of chloroplasts isolated from spinach and tobacco leaves. Arch. Biochem. **71**, 367—376 (1957). — CHIBNALL, A.: Protein metabolism in the plant. New Haven: Yale University Press 1939. — COX jr., R. S.: The nucleotide composition of the total ribonucleic acid in subcellular fractions of resting and regenerating rat liver. Biochim. biophys. Acta **24**, 61—66 (1957). — DI STEFANO, H. S.: Perchloric acid extraction of ribose nucleic acid from cytological preparations. Science **115**, 316—317 (1952). — HEILINGER, F.: Untersuchungen über die Desoxyribonukleinsäure bei Bakterien. Beitr. Biol. Pflanzen **30**, 179—238 (1954). — HOLDEN, M.: The fractionation and enzymatic breakdown of some phosphorus compounds in leaf tissue. Biochem. J. **51**, 433—442 (1952). — JAGENDORF, A. T., and S. G. WILDMAN: The proteins of green leaves. II. Centrifugal fractionation of tobacco leaf homogenates and some properties of isolated chloroplasts. Plant Physiol. **29**, 270—279 (1954). — KERN, H.: Über das Vorkommen von Nucleinsäuren in isolierten Chloroplasten. Diss. Münster 1956. Protoplasma **50**, 505—543 (1959). — MARKHAM, R.: Nucleic acids, their components and related compounds. In K. PAECH u. M. V. TRACEY, Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. 4, S. 246—304. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — MCCLENDON, J. H.: The intracellular localisation of enzymes in tobacco leaves. I. Identification of components of the homogenate. Amer. J. Bot. **39**, 275—282 (1952). — MICHAELIS, P.: Wege und Möglichkeiten zur Analyse des plasmatischen Erbgutes. Biol. Zbl. **73**, 353—399 (1954). — OGUR, M., and G. ROSEN The nucleic acids of plant tissues. I. The extraction and estimation of deoxypentose nucleic acid and pentose nucleic acid. Arch. Biochem. **25**, 262—276 (1950). — SCHMIDT, G., and S. J. THANNHAUSER: A method for the determination of deoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, phosphoproteins in animal tissues. J. biol. Chem. **161**, 83—89 (1945). — WEBB, J. M.: A sensitive method for the determination of ribonucleic acid in tissues and microorganisms. J. biol. Chem. **221**, 635—649 (1956).

Dr. HARTMUT KERN, Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung
Köln-Vogelsang

Planta 53, 602—611 (1959)

Aus dem Institut für Zierpflanzenbau der Technischen Hochschule Hannover
(Direktor: Prof. R. Maatsch)

ÜBER DEN EINFLUSS DER TEMPERATUR WÄHREND VERSCHIEDENER ZEITABSCHNITTE DER KURZTAGPERIODE AUF DIE BLÜTENBILDUNG VON *KALANCHOE BLOSSFELDIANA*

Von
W. Rünger

(Eingegangen am 19. Mai 1959)

Einige Versuche mit der Kurztagpflanze *Kalanchoe bloßfeldiana*, deren photoperiodische Reaktion besonders von Harder u. Mitarb. untersucht worden ist (z. B. Harder und v. Witsch 1940, Harder 1946), hatten ergeben (Rünger 1958 II), daß während der Kurztagperiode bei diurnal sich ändernden Temperaturen ein Wechsel von 20°C und etwas mehr mit 15° einen stärkeren Blühimpuls hervorruft als die günstigste konstante Versuchstemperatur von 20°. Konstante Temperaturen von 10 und 30° während der Kurztagperiode verhindern die Blütenbildung. Erfolgt aber ein Wechsel von 10° mit höheren bzw. ein Wechsel von 30° mit niedrigeren Temperaturen, so kommt es zur Blütenbildung. Hierbei wie auch beim günstigsten Temperaturwechsel ist die Tendenz gleich, unabhängig davon, ob die Tages- oder die Nachttemperatur hoch oder niedrig ist. Aus diesen Versuchsergebnissen konnte geschlossen werden, daß zwei für die Blütenbildung notwendige Teilprozesse mit verschiedenen Temperaturkardinalpunkten erfaßt wurden, die vom Licht und von der Dunkelheit nicht direkt abhängig sind, also neben den photoperiodischen Teilprozessen wirksam sein müssen. Miteinander verknüpft müssen die verschiedenen Teilprozesse aber sein. Die verhältnismäßig geringen Differenzen zwischen dem Tag-Nacht-Wechsel zweier Temperaturen und dem umgekehrten (Nacht-Tag-) Wechsel der gleichen Temperaturen müssen entweder als Folge der unterschiedlichen Dauer der Temperaturperioden (sie dauerten entsprechend der Licht- bzw. Dunkelphase 9 und 15 Std) oder, was wahrscheinlich stärker ins Gewicht fällt, als Überlagerungen anderer, und zwar licht- und dunkelheitsabhängiger Temperaturwirkungen angesehen werden.

Einige Beobachtungen deuteten darauf hin, daß möglicherweise ähnliche Temperaturwirkungen zutage treten würden, wenn der Wechsel der Temperatur nur einmal nach mehreren Kurztagen erfolgte. Untersuchungen hierüber erschienen angebracht, weil damit weitere Kenntnisse über die Wechselbeziehungen zwischen Temperatur und Blüten-

bildung, besonders aber über die neben den photoperiodischen Teilprozessen für die Blütenbildung notwendigen Teilprozesse bei Kurztagpflanzen zu gewinnen waren.

Versuchsmethode

Aus Stecklingen herangezogene Pflanzen von *Kalanchoe bloßfeldiana* der Sorte „Tom Thumb" wurden während verschiedener Abschnitte der Kurztagperiode verschiedenen Temperaturen ausgesetzt. Die Kurztag- und Temperaturbehandlungen erfolgten in Glaskästen, die in einem Gewächshaus standen und in denen die Temperatur mit Hilfe elektrischer Heizungen, Kühlmaschinen und Ventilatoren $\pm 0{,}5^0$ konstant gehalten werden konnte. Hier erhielten die Pflanzen das durch das Doppelglas der Kästen und das einfache Glas des Gewächshauses abgeschwächte Tageslicht. Im Sommer mußte außerdem noch schattiert werden. Während der Behandlung wurden die in Töpfen mit Einheitserde nach Fruhstorfer stehenden Pflanzen, wenn nicht anders angegeben, von unten über eine automatische Bewässerungsanlage bewässert. Eine ausführliche Beschreibung der Versuchskästen befindet sich bei Rünger (1956). Während der Kurztagperiode betrug die Tageslänge 9 Std. Die Behandlung begann immer mit der ersten Lichtphase der Kurztagperiode und endete mit der letzten langen Dunkelphase. Vor und nach der Kurztagperiode standen die Pflanzen unter Langtagbedingungen im Gewächshaus bei 20—25° (gelegentlich größere Abweichungen, besonders nach oben). Im Winterhalbjahr wurde der Tag mit Glühlampenlicht verlängert. Für die Versuche fanden gleichmäßig gewachsene, aus einem größeren, gleichzeitig vermehrten Bestand ausgelesene Pflanzen Verwendung.

Die Versuche

Es wurden mehrere Versuche durchgeführt. Da deren Ergebnisse gleiche Tendenzen zeigten, sollen der Kürze halber nur zwei beschrieben werden.

1. Der erste Versuch sollte zeigen, welchen Einfluß ein einmaliger Wechsel der Temperatur in der Mitte der Kurztagperiode hat. Gleichzeitig erschien ein Vergleich mit diurnal wechselnden Temperaturen angebracht. Für diesen Versuch wurden 10—12 cm hohe Pflanzen mit 11 Blattpaaren und mit Seitentrieben verwendet. Die Kurztagperiode begann am 27. 7. 1958 und dauerte 12 Tage. Bei der einen Gruppe erfolgte der Temperaturwechsel nach 6 Tagen und bei der anderen täglich um 7 und um 16 Uhr, so daß hier während der 15stündigen Dunkelheit die eine und während der 9stündigen Lichtperiode die andere Temperatur herrschte. Die Pflanzen standen, mit den Töpfen in feuchtem Torfmull eingesenkt, in Zinkkästen, die beim Wechsel von Versuchskasten zu Versuchskasten getragen wurden. Der Umtausch der Kästen dauerte 5—10 min. Je nach der Stellung der Organe und je nach der Temperaturdifferenz paßte sich die Pflanzentemperatur der neuen Umgebungstemperatur innerhalb von etwa 15—60 min an, und zwar am schnellsten die freistehenden Blätter und am langsamsten die Erde und damit die Wurzeln (s. auch Rünger 1958 II).

Die Temperaturen betrugen 15, 20, 25 und 30°, und es wurden alle Wechselkombinationen angewendet. Jede Versuchsgruppe (einmaliger, diurnaler Wechsel) bestand aus 16 Versuchsgliedern. Diejenigen, die während der ganzen Kurztagperiode die gleiche Temperatur hatten, bei denen also kein Wechsel erfolgte, kamen aber nur einmal vor und dienten als Vergleich für beide Gruppen. Jedes Versuchsglied umfaßte 10 Pflanzen.

Tabelle 1. *Einfluß der Temperatur in verschiedenen Zeiten der Kurztagperiode auf die Blütenbildung von Kalanchoe. Wechsel der Temperatur nach 6 Tagen, Dauer der Kurztagperiode 12 Tage*

Temperatur in erster 6 Tage-Periode	Temperatur in zweiter 6 Tage-Periode			
	15° C	20° C	25° C	30° C
a) Mittlere Anzahl der Seitentriebe mit Inflorescenzen				
15° C	1,6	0,6	0,0	0,0
20° C	4,7	4,1	0,0	0,0
25° C	5,9	3,2	2,2	0,0
30° C	1,6	3,8	0,4	0,0
b) Mittlere Anzahl der Blüten am Hauptblütenstand				
15° C	2,9	2,3	0,4	0,0
20° C	6,9	6,1	1,5	0,0
25° C	7,9	6,0	3,1	0,0
30° C	1,6	4,7	0,4	0,0

Tabelle 2. *Einfluß diurnal wechselnder Temperaturen während der Kurztagperiode auf die Blütenbildung von Kalanchoe. Dauer der Kurztagperiode 12 Tage*

Temperatur am Tag	Nachttemperatur			
	15° C	20° C	25° C	30° C
a) Mittlere Anzahl der Seitentriebe mit Inflorescenzen				
15° C	1,6	6,3	6,3	1,2
20° C	5,8	4,1	3,9	0,8
25° C	8,1	2,1	2,2	0,0
30° C	3,2	1,5	0,3	0,0
b) Mittlere Anzahl der Blüten am Hauptblütenstand				
15° C	2,9	14,6	11,6	1,7
20° C	9,2	6,1	4,7	0,7
25° C	12,1	4,8	3,1	0,3
30° C	7,0	4,5	1,4	0,0

Tabelle 1 enthält die mittlere Anzahl der Seitentriebe mit Inflorescenzen (a) und die Anzahl der Blüten am Hauptblütenstand (b) der Gruppe mit einmaligem Temperaturwechsel. Diese Angaben sind ein brauchbares Maß für die Stärke des Blühimpulses. Die Anzahl der vegetativen Seitentriebe, der Anteil an verlaubten Blütenständen, das Sichtbarwerden der Inflorescenzen und der Blühbeginn wurden ebenfalls ermittelt. Da diese Werte aber Gleichsinniges aussagen, sind sie hier weggelassen. An den Ergebnissen ist zu erkennen, daß die günstigste Wirkung bei einem Wechsel von 25 zu 15° vorhanden war. Bei anderen Versuchen war das z.T. bei einem Wechsel von 20 zu 15° der Fall. Offenbar sind Schwankungen bei der günstigen hohen Temperatur zwischen 20 und 25° möglich. Auch beim diurnalen Wechsel kommen in dieser Hinsicht Schwankungen vor. Beim einmaligen spielt hierbei, wie aus dem nächsten Versuch hervorgeht, der Zeitpunkt des Wechsels eine Rolle. Beim diurnalen Wechsel, aber auch beim einmaligen, könnte die Lichtintensität am Tage modifizierend gewirkt haben.

Günstig ist der Wechsel nur, wenn die höhere Temperatur in der ersten Periode herrscht. Selbst 30° sind dann noch relativ günstig. Der umgekehrte Wechsel — zuerst niedrige Temperatur, dann höhere — hat dagegen eine starke Hemmung zur Folge. So ergibt z. B. der Wechsel von 25 zu 15° den stärksten Blühimpuls, der umgekehrte Wechsel läßt dagegen nur eine schwache Blühreaktion zu. Besonders stark ist die Hemmung, wenn die Temperatur in der zweiten Periode 30° beträgt. Auch ist es ungünstig, wenn während der ganzen Kurztagperiode 15, 25 oder besonders 30° herrschen. In der zweiten Periode sind 15° meist am günstigsten. Haben die Pflanzen in der ersten Periode 30°, so können in der zweiten Periode aber 20° eine stärkere Blühförderung zur Folge haben als 15° (nicht bei allen Versuchen beobachtet).

Bei der Anzahl der Seitentriebe mit Inflorescenzen sind Differenzen über 1,4—1,6 und bei der Anzahl der Blüten am Hauptblütenstand 1,9—2,0 bei einem p-% von 5 statistisch gesichert.

Die gewonnenen Ergebnisse lassen sich zwanglos so deuten, daß im ersten Teil der Kurztagperiode ein (oder mehrere?) für die Blütenbildung wichtiger Teilprozeß abläuft, dessen Temperaturoptimum verhältnismäßig hoch liegt, und im zweiten Teil ein Teilprozeß mit niedrigem Optimum und verhältnismäßig niedrigem Maximum. Die Feststellung, daß dann, wenn zuerst 30° herrschen, in der zweiten Periode 20° günstiger sein können als 15°, kann so erklärt werden, daß 30° für den Ablauf des Teilprozesses mit höherem Temperaturoptimum schon ungünstig wären und dieser Teilprozeß in den 6 Tagen vor dem Wechsel bei dieser Temperatur noch unvollständig abgelaufen sei. Dann könnte in der zweiten Periode die Temperatur am günstigsten sein, bei der sowohl der eine als auch der andere Teilprozeß noch gut ablaufen, nämlich 20°.

Werden die Ergebnisse der Gruppe mit einmaligem Temperaturwechsel mit der Gruppe mit diurnalem Wechsel (Tabelle 2) verglichen, so läßt sich erkennen, daß in ähnlicher Weise ein Wechsel von 25 oder 20° zu 15° den stärksten Blühimpuls ergab. Wie schon erwähnt, waren in anderen Versuchen als hohe Wechseltemperatur teilweise 25° und teilweise 20° am günstigsten. Diese Schwankungen sind durch Änderungen anderer, überlagernder Temperaturwirkungen, vielleicht im Zusammenhang mit der Lichtintensität, die ja bei den verschiedenen Versuchen verschieden war (Tageslicht), erklärbar. Bei dieser Versuchsgruppe war ein Wechsel unabhängig davon günstig, ob die hohe oder die niedrige Temperatur am Tage oder in der Nacht herrscht. Allerdings gibt es eine Verschiebung zwischen 20 und 25°. Nachts sind 20°, am Tage 25° als Wechseltemperatur günstiger. Hohe Temperaturen sind in der Nacht besonders ungünstig (s. 30°). Hierbei mögen die Einwirkungsdauer der Temperatur (Tag 9 Std, Nacht 15 Std —

entsprechende Dauer der Temperatur) oder überlagernde, vom Licht oder der Dunkelheit abhängige Temperaturwirkungen von Bedeutung sein. Diese Fragen sind aber schon ausführlich erörtert worden (Rünger 1958 II).

Der Blühimpuls ist bei den Versuchsgliedern mit günstigem Temperaturwechsel, z.T. auch bei den anderen, in der Gruppe mit diurnalem Wechsel größer als in der Gruppe mit einmaligem Wechsel. Das kann nicht etwa darauf beruhen, daß bei diurnalem Wechsel die überlagernden, licht- und dunkelheitabhängigen Teilprozesse günstiger beeinflußt werden, denn sowohl der Wechsel von hoher Nacht- mit niedriger Tagestemperatur als auch der umgekehrte waren günstiger als der einmalige. Aus dem Unterschied zwischen dem diurnalen und dem einmaligen Wechsel läßt sich allerdings noch nicht sicher schließen, daß ein diurnaler Wechsel ganz allgemein günstiger als ein einmaliger sei, weil es außer den hier verwirklichten Wechselmöglichkeiten zahlreiche andere gibt, bei denen quantitativ andere Ergebnisse zu erzielen sein können. Da aber, wie aus dem nächsten Versuch hervorgeht, durch verschiedene angewandte Wechselzeiten keine wesentlichen Unterschiede bei den am meisten begünstigten Versuchsgliedern hervorgerufen werden, erscheint es wahrscheinlicher, daß ein diurnaler Wechsel günstiger als ein einmaliger sein wird. Hiervon abgesehen, erscheint bei den Ergebnissen wichtig, daß beim einmaligen Wechsel ähnliche Wirkungen auftreten wie beim diurnalen Wechsel und beim einmaligen Wechsel zuerst die hohe und dann die niedrige Temperatur einwirken muß, während beim diurnalen Wechsel wohl keine derartige Zeitbindung nötig ist und an einem Tage sowohl die hohe als auch die niedrige Temperatur wirksam werden (s. auch S. 609).

2. Im ersten Versuch erfolgte der einmalige Temperaturwechsel nach 6 Tagen in der Mitte der Kurztagperiode. Die Wahl dieses Zeitpunktes ist natürlich willkürlich. Die Wirkung des Wechsels hängt sicher vom Fortschreiten der Prozesse in der Pflanze ab. So war damit zu rechnen, daß bei anderen Wechselzeiten mehr oder weniger starke Modifikationen auftreten würden. Beim zweiten Versuch wurde deshalb der einmalige Wechsel nach 3, 6 oder 9 Tagen durchgeführt, und zwar wie bei der Gruppe mit einmaligem Wechsel im vorigen Versuch.

Die Pflanzen für diesen Versuch waren 9—11 cm hoch und hatten 11 Blattpaare und Seitentriebe. Am 15. 6. 58 wurde mit der Kurztagbehandlung begonnen. Die Temperaturen betrugen wie beim vorigen Versuch 15, 20, 25 und 30° und die Tageslänge ebenfalls 9 Std. Da alle Wechselkombinationen angewendet wurden, bestand jede Gruppe (Wechsel nach 3, 6, 9 Tagen) aus 16 Versuchsgliedern. Die Versuchsglieder, die ständig, also während der 12 Kurztage, bei den gleichen Temperaturen standen, waren im Versuch nur einmal vertreten und

wurden als Vergleich für alle Gruppen verwendet. Der ganze Versuch umfaßte deshalb nicht 48, sondern nur 40 Versuchsglieder. Jedes Versuchsglied bestand aus 10 Pflanzen.

Tabelle 3. *Einfluß der Temperatur zu verschiedenen Zeiten der Kurztagperiode beim einmaligen Temperaturwechsel nach 3, 6 und 9 Tagen. Dauer der Kurztagperiode 12 Tage*

Temperatur in der ersten Periode	Temperatur in der zweiten Periode											
	Temperaturwechsel nach 3 Tagen				Temperaturwechsel nach 6 Tagen				Temperaturwechsel nach 9 Tagen			
	15°C	20°C	25°C	30°C	15°C	20°C	25°C	30°C	15°C	20°C	25°C	30°C
a) Mittlere Anzahl der Seitentriebe mit Inflorescenzen												
15° C	0,1[1]	0,2	0,0	0,0	0,1[1]	0,0	0,0	0,0	0,1[1]	0,0	0,0	0,0
20° C	1,4	1,0[1]	0,2	0,0	2,6	1,0[1]	0,0	0,0	2,6	1,0[1]	0,0	0,0
25° C	2,2	2,8	0,0[1]	0,0	2,6	1,9	0,0[1]	0,0	0,4	0,9	0,0[1]	0,0
30° C	2,6	2,4	0,0	0,0[1]	2,0	0,4	0,0	0,0[1]	0,0	0,1	0,0	0,0[1]
b) Mittlere Anzahl der Blüten am Hauptblütenstand												
15° C	0,6[1]	0,7	0,0	0,0	0,6[1]	0,9	0,0	0,0	0,6[1]	0,2	0,0	0,0
20° C	1,8	1,3[1]	0,1	0,0	3,9	1,3[1]	0,2	0,0	4,1	1,3[1]	0,0	0,0
25° C	2,0	5,7	0,1[1]	0,0	6,0	2,1	0,1[1]	0,0	1,0	1,7	0,1[1]	0,0
30° C	2,7	4,3	0,1	0,0[1]	0,9	0,4	0,0	0,0[1]	0,0	0,1	0,0	0,0[1]

[1] Versuchsglieder mit gleichen Temperaturen während der 12 Kurztage, nur einmal vorkommend, jedoch bei allen Versuchsgruppen des besseren Vergleichs wegen eingetragen.

Die Ergebnisse, die in Tabelle 3 zusammengefaßt sind, zeigen, daß sich mit der Periodendauer die Wirkung der Temperatur sowohl in der ersten als auch in der zweiten Periode ändert. Aber auch diese Änderungen gegenüber dem einmaligen Wechsel in der Mitte der Kurztagperiode sind mit 2 Teilprozessen mit verschiedenen Temperaturkardinalpunkten erklärbar. Man kann sich vorstellen, daß der Ablauf der einzelnen Teilprozesse eine bestimmte Zeit erfordert. Ist diese Zeit z. B. für den Teilprozeß mit dem hohen Optimum nicht ausreichend, so wird wahrscheinlich im Anschluß daran nicht die für den zweiten Teilprozeß günstige, für den ersten aber ungünstige Temperatur einen starken Blühimpuls geben, sondern vielmehr diejenige, bei der sowohl der eine als auch der andere Teilprozeß relativ günstig ablaufen. Das ist bei der Gruppe mit einem Temperaturwechsel nach 3 Tagen z. T. verwirklicht. Hier ergeben teilweise 20° in der zweiten Periode einen stärkeren Blühimpuls als 15°. Andererseits kann, wenn die erste Periode verhältnismäßig lange dauert, die Periode für die niedrige Temperatur zu kurz sein, dann wird die Temperatur in der ersten Periode günstig sein, bei der auch schon der Teilprozeß mit dem niedrigen Temperaturoptimum relativ günstig abläuft, nämlich 20° (die immer dann am günstigsten sind, wenn die Temperaturen während der Kurz-

tagperiode konstant bleiben oder die erste durch die zweite Periode relativ lange dauert, wodurch eine Annäherung an die Temperaturkonstanz erreicht wird). Das ist bei der Gruppe mit dem Temperaturwechsel nach 9 Tagen festzustellen. Voraussetzung für die Richtigkeit der Erklärung über das Zustandekommen der Modifikationen bei unterschiedlicher Periodendauer ist, daß die Teilprozesse einmal hintereinander und dann auch, mindestens teilweise, nebeneinander ablaufen können und vielleicht verschiedenartige Verknüpfungen untereinander oder mit anderen für die Blütenbildung wichtigen Teilprozessen möglich sind.

Bei dem Temperaturwechsel nach 3 Tagen sind 30° in der ersten Periode mindestens ebenso günstig, wenn nicht günstiger als 25° oder niedrigere Temperaturen. Das deutet darauf hin, daß das Temperaturoptimum für den ersten Teilprozeß noch über 25° liegen kann und bei längerer Periodendauer 25° oder 20° deshalb günstiger sind, weil vielleicht hier schon der zweite Teilprozeß mit niedrigem Temperaturoptimum eingeleitet wird, der noch bei 25° vonstatten geht (bei konstant 25° erfolgt eine Blütenbildung). Andererseits ist es aber auch denkbar, daß hier mehrere Teilprozesse mit wenig verschiedenen Temperaturen wirksam werden können, deren Resultante sich mit der Periodendauer etwas ändert (s. auch S. 610).

Besprechung

Nach den Versuchsergebnissen erfolgt bei *Kalanchoe* während einer längeren Kurztagperiode — bei den hier beschriebenen Versuchen dauerte die Kurztagperiode 12 Tage — nach mehreren Tagen ein Wechsel in der für die Blütenbildung optimalen und maximalen Temperatur. Dieser Wechsel betrifft wahrscheinlich auch die minimale Temperatur. Zu Anfang der Kurztagperiode sind hohe, dann aber niedrigere Temperaturen günstig. Die unterschiedlichen Temperaturoptima machen deutlich, daß hier, ähnlich wie beim diurnalen Temperaturwechsel (s. erster Versuch und Rünger 1958 II) neben den photoperiodischen Teilprozessen für die Blütenbildung wichtige andere Teilprozesse erfaßt sind.

Die charakteristischen Wirkungen der Temperatur in dem hier benutzten Bereich sind beim diurnalen und beim einmaligen Wechsel ähnlich, so z.B. die günstige Wirkung des Wechsels von 20—25° zu 15°[1]. Diese Ähnlichkeit läßt aber noch nicht ohne weiteres den Schluß zu, daß die gleichen Teilprozesse beeinflußt werden. Es ist auch denkbar, daß es sich um verschiedene Teilprozesse handelt. Jedoch müßten dann beim einmaligen bzw. diurnalen Wechsel jeweils auch die anderen Teilprozesse beeinflußt werden. Lägen verschiedene Teilprozesse vor,

[1] Eine Ausdehnung des Temperaturbereiches soll im Zusammenhang mit der Untersuchung anderer Fragen erfolgen.

so dürften 15°, die beim einmaligen Wechsel am Ende der Kurztagperiode günstig sind, nicht auch gleichzeitig den Ablauf der durch günstige Temperaturen beim diurnalen Wechsel geförderten Teilprozesse hemmen — konstant 15° sind hier ungünstig. Ähnlich ist es bei den anfänglich höheren Temperaturen. Daß es sich im *wesentlichen* um die gleichen Teilprozesse handelte, wäre also einleuchtender. Bei der Annahme gleicher Teilprozesse ergibt sich aber die Schwierigkeit, daß unterschiedliche Verknüpfungen untereinander und mit den übrigen, für die Blütenbildung notwendigen Teilprozessen oder Verknüpfungen erst nach Ablauf der Prozesse vorausgesetzt werden müßten. Fände die Verknüpfung erst nach dem Ablauf der Teilprozesse statt, so wäre mit einer weitgehenden Unabhängigkeit der beiden von der Temperatur abhängigen Teilprozesse zu rechnen. Die günstigste Wechselzeit beim einmaligen Temperaturwechsel wäre dann lediglich zeitbedingt. Das ist aber anscheinend nicht der Fall, wie die etwas voneinander abweichenden Versuchsergebnisse, besonders hier nicht beschriebener Versuche, und andere Beobachtungen (Rünger 1958 II) andeuten, wonach sich anscheinend mit der Lichtintensität, durch die die Geschwindigkeit des Ablaufs der zur Blütenbildung führenden Teilprozesse stark beeinflußt wird (bei *Kalanchoe* z. B. Harder und Gümmer 1949, Rünger 1958 II), die günstigste Wechselzeit ändert. Der vollgültige Beweis fehlt jedoch noch. Sollte er sich erbringen lassen, so müßte — immer noch die Beeinflussung gleicher Teilprozesse beim diurnalen und einmaligen Wechsel angenommen — eine unterschiedliche Verknüpfung mit den anderen, beispielsweise licht- und dunkelheitsabhängigen Teilprozessen möglich sein. Eine unterschiedliche Verknüpfungsmöglichkeit der beiden durch den Temperaturwechsel beeinflußten Teilprozesse wird durch das Folgende nahegelegt. Beim einmaligen Temperaturwechsel muß zuerst nur der eine Teilprozeß mit hohem Temperaturoptimum ablaufen können, sonst könnte die verhältnismäßig günstige Wirkung von 30°, einer Temperatur, die, über die ganze Kurztagperiode gegeben, das Blühen verhindert, nicht zustande kommen. Andererseits scheinen aber, mindestens teilweise, beide Prozesse gleichzeitig ablaufen zu können, sonst wäre die relativ günstige Wirkung von konstant 20° bei längerer Einwirkungsdauer nicht vorhanden. Beim diurnalen Wechsel wird aber wohl an einem Tage sowohl der eine als auch der andere Teilprozeß ablaufen. Die andere noch denkbare Möglichkeit, daß trotz des täglichen Wechsels zuerst der Teilprozeß mit hohem und dann der mit niedrigem Temperaturoptimum abläuft, die jeweilige dazugehörende Wechseltemperatur — im ersten Abschnitt die niedrige, im zweiten Abschnitt die höhere — ohne wesentlichen Einfluß bleibt, erscheint weniger wahrscheinlich, weil dann beim einmaligen Wechsel der stärkere Blühimpuls zu erwarten wäre, doch ist gerade der diurnale Wechsel verhältnismäßig günstig. Immerhin muß

doch mit Wirkungsänderungen auch beim diurnalen Wechsel der Temperatur im Verlaufe der Kurztagperiode gerechnet werden. Sollte es sich mit weiteren Versuchen als sicher erweisen lassen, daß es sich um die gleichen Teilprozesse handelt, die sowohl durch den diurnalen als auch durch den einmaligen Temperaturwechsel beeinflußt werden, so müssen die zur Blütenbildung führenden Teilprozesse nicht in einer bestimmten Reihe aufeinanderfolgen.

Die hier dargelegten Beziehungen können vielleicht noch dadurch kompliziert sein, daß die jeweiligen Temperaturoptima Resultanten der Optima verschiedener Teilprozesse sind, wie das ja offenbar für 20° zutrifft, die bei konstanten Temperaturen am günstigsten sind und als Resultante der Optima von 20—25° und 15° aufgefaßt werden können. Daß es sich bei den Optima, besonders bei der zuerst günstigen höheren Temperatur, um eine Resultante handeln kann, wurde durch die Schwankungen in der günstigen Temperatur zu Anfang der Kurztagperiode angedeutet (s. S. 608).

Bei *Kalanchoe* wurde verschiedentlich eine, wenn auch schwache Blühreaktion schon mit vier (Harder und v. Witsch 1940) oder gar drei Kurztagen (Schwabe 1956) erzielt. Es fragt sich, ob auch während dieser kurzen Zeit ein einmaliger Temperaturwechsel wirksam ist. Hier muß in Betracht gezogen werden, daß auch die Temperaturbedingungen nach der Kurztagperiode entscheidend sein können, denn wahrscheinlich laufen die lediglich durch die Temperatur beeinflußten Teilprozesse auch nach der Kurztagperiode noch eine gewisse Zeit weiter, wenngleich sich auch dann schon der hemmende Einfluß des ebenfalls in seiner Wirkung temperaturabhängigen Langtages bemerkbar macht (Rünger 1958 III). Vor der Kurztagperiode scheinen diese Teilprozesse noch nicht ausgelöst oder deren Wirkung nicht auf die nachfolgende Kurztagperiode übertragen zu werden (Rünger 1958 I).

Es mag noch der Hinweis von Interesse sein, daß auch bei der Samenkeimung von *Lepidium* u.a. (Toole u. Mitarb. 1955 I und II) ein diurnaler wie auch ein einmaliger Temperaturwechsel von 15 und 25° fördernd wirkt, und zwar anscheinend unabhängig von der Lichtwirkung. Beim einmaligen Wechsel ist dabei aber, anders als bei der Blütenbildung von *Kalanchoe*, zuerst die niedrige und dann die hohe Temperatur günstig. Hier scheint also eine ähnliche Übereinstimmung zwischen Samenkeimung und Blütenbildung vorzuliegen wie bei anderen Teilprozessen, z.B. den durch Hellrot- und Dunkelrotlicht beeinflußten (Borthwick u. Mitarb. 1952 I und II u.a.).

Zusammenfassung

1. Mit der Kurztagpflanze *Kalanchoe bloßfeldiana* (Sorte Tom Thumb) wurden Versuche durchgeführt, bei denen während der Kurz-

tagperiode die Temperatur entweder diurnal oder nach mehreren Tagen gewechselt wurde.

2. Sowohl beim diurnalen als auch beim einmaligen Wechsel in der Mitte der Kurztagperiode war ein solcher von 20—25° zu 15° am günstigsten. Bei diurnalem Wechsel war es weniger von Bedeutung, ob die Tag- oder Nachttemperatur hoch oder niedrig lag. Beim einmaligen Wechsel waren zuerst höhere und dann niedrigere Temperaturen günstig, der umgekehrte Wechsel dagegen ungünstig.

3. Diese Ergebnisse wurden so ausgelegt, daß vom Licht und von der Dunkelheit unabhängige Teilprozesse mit verschiedenen Temperaturkardinalpunkten erfaßt sind, jedoch gibt es keinen Beweis dafür, daß die gleichen Teilprozesse einmal durch den diurnalen und dann durch einmaligen Wechsel beeinflußt werden. Die Beeinflussung im wesentlichen gleicher Teilprozesse erscheint aber wahrscheinlicher als die Beeinflussung verschiedener.

4. Einmaliger Temperaturwechsel zu verschiedenen Zeitabschnitten der Kurztagperiode ergab unterschiedliche Reaktionen auf die Wechseltemperaturen. Diese Unterschiede konnten als Folge des zeitbedingten Ablaufs der Teilprozesse interpretiert werden.

Literatur

BORTHWICK, H. A., S. B. HENDRICKS and M. W. PARKER: The reaction controlling floral initiation. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 929—934 (1952 II). — BORTHWICK, H. A., S. B. HENDRICKS, M. W. PARKER, E. H. TOOLE and V. K. TOOLE: A reversible photoreaction controlling seed germination. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 662—666 (1952 I). — HARDER, R.: Über photoperiodisch bedingte Organ- und Gestaltbildung bei Pflanzen. Naturwiss. **33**, 41—49 (1946). — HARDER, R., u. G. GÜMMER: Über die Blütenbildung von *Kalanchoe bloßfeldiana* in verschiedenen Licht-Dunkel-Rhythmen. Planta (Berl.) **37**, 12—47 (1949). — HARDER, R., u. H. v. WITSCH: Wirkung von Photoperiodismus und Jarovisation auf die Blütenbildung von *Kalanchoe bloßfeldiana*. Gartenbauwiss. **15**, 226—246 (1940). — RÜNGER, W.: Über den Einfluß der Temperatur und der Lichtintensität auf die photoperiodische Reaktion und die Blütenentwicklung von *Kalanchoe bloßfeldiana* Poellnitz cv. Tom Thumb (I). Gartenbauwiss. **2** (20), 485—504 (1956). — Über den Einfluß der Temperatur und der Lichtintensität auf die photoperiodische Reaktion und die Blütenentwicklung von *Kalanchoe bloßfeldiana* Poellnitz cv. Tom Thumb (II, III und IV). Gartenbauwiss. **5** (23), 282—293, 294—307, 419—432 (1958 I, II u. III). — SCHWABE, W. W.: Evidence for a flowering inhibitor produced in long days in *Kalanchoe bloßfeldiana*. Ann. Bot. **20**, 1—14 (1956). — TOOLE, E. H., V. K. TOOLE, H. A. BORTHWICK and S. B. HENDRICKS: Photocontrol of Lepidium seed germination. Plant Physiol. **30**, 15—21 (1955 I). — Interaction of temperature and light in germination of seeds. Plant Physiol. **30**, 473—478 (1955 II).

Dr. W. RÜNGER,
Institut für Zierpflanzenbau der Technischen Hochschule,
Hannover-Herrenhausen, Herrenhäuser Straße 2

Planta 53, 612—627 (1959)

Aus der Abteilung Botanik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin

TRIJODBENZOESÄURE UND DIE STOFFLEITUNG BEI HÖHEREN PFLANZEN

Von

EIKE LIBBERT

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 20. Juni 1959)

Seit der Feststellung GALSTONS (1947), daß die 2,3,5-Trijodbenzoesäure (TIBA) bei Pflanzen als Wachstumsinhibitor wirkt, wurden unterschiedliche Ansichten über den Wirkungsmechanismus dieses Regulators geäußert. GALSTON erwog eine Auxinzerstörung oder eine Antiauxinwirkung (Antiauxin: Substanz, die die Auxinwirkung kompetitiv hemmt; TUKEY u.a. 1954).

Folgende Autoren betrachten TIBA als Antiauxin: THIMANN u. BONNER (1948), DE WAARD u. FLORSCHÜTZ (1948), POHL (1952), LINSER (1954) u.a. Allerdings ist fraglich, ob die kompetitive Wirkung am Wachstumszentrum stattfindet oder bei der Aufnahme von Auxin in das Testobjekt und anderen Sekundärprozessen.

LEOPOLD u. KLEIN (1951) betonen, daß TIBA kein Antiauxin sei. Auch MCRAE u. BONNER (1953) haben Bedenken, TIBA zu den „echten" Antiauxinen zu zählen, weil sie im Sinne der 2-Punkt-Bindungstheorie sicherlich an 2 Stellen, nicht an einer, an den Receptor gebunden sei. TIBA wäre demnach kein Antiauxin, aber ein Auxinantagonist (Auxinantagonist: Substanz, die eine der Auxinwirkung entgegengerichtete Wirkung dadurch entfaltet, daß sie auf beliebige Weise in das Auxinsystem oder den Auxinstoffwechsel eingreift; das braucht nicht notwendigerweise kompetitiv zu sein). ÅBERG (1953) erwägt als Ursache für die Hemmwirkung von TIBA außer der Antiauxinwirkung andere auxinantagonistische Wirkungen. NAGAO u. OHWAKI (1955) tendieren zu der Ansicht, daß TIBA kein Auxinantagonist sei, sondern unabhängig vom Auxinsystem wirke.

In geringer Konzentration besitzt TIBA auch fördernde Wachstumswirkungen, die meist als Synergismus zum Auxin gedeutet werden (THIMANN u. BONNER 1948). ÅBERG (1953) versucht den Synergismus als Hemmung des Auxinabbaus zu erklären und unterscheidet mit steigender Konzentration 3 TIBA-Wirkungen: Auxinsynergismus — Auxinantagonismus — unspezifische Hemmung (toxisch). Auxinartige (synergistische?) und auxinantagonistische Wirkungen der TIBA finden auch STREET (1955) und HACCIUS u. NIES (1956).

AUDUS (1954) betont, daß die Förderungen durch TIBA und Auxin additiv seien und deshalb kein Synergismus vorliege. KANDLER u. FINK (1955) und GORTER (1957) sprechen TIBA als Auxin an, vgl. auch MUIR u. HANSCH (1953).

Nach AUDUS u. THRESH (1956) senkt eine TIBA-Behandlung den IES- (Indol-3-essigsäure-) Gehalt pflanzlicher Gewebe; das ist eine auxinantagonistische, aber nicht antiauxinische Wirkung. Versuche von LIBBERT (unveröffentlicht), nach denen TIBA in vitro das Enzymsystem hemmt, das Tryptophan zu IES abbaut, können hierfür als Erklärung dienen.

In neuerer Zeit wird eine Blockierung der IES-Leitung durch TIBA gefunden: KUSE (1953, 1954), NIEDERGANG-KAMIEN u. SKOOG (1956), HAY (1956), CHAMPAGNAT u. PIGERET (1957), LIBBERT (1957) u.a. Diese Eigenschaft, den IES-Transport zu blockieren, kommt nicht nur TIBA zu, sondern auch einer Reihe anderer Substanzen: Phthalsäure-mono-α-naphthylamid (MORGAN u. SÖDING 1958), Natriumglykocholat (CHAMPAGNAT u. PIGERET 1957), 9-Anthronsäure (HUGON 1957), 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (HAY 1956), einigen IES-Abbauprodukten, nämlich Indol-3-aldehyd (MEYER 1958, MEIJER 1958) und Indol-3-carboxylsäure (MEYER 1958), sowie weiteren synthetischen Substanzen.

Nach NIEDERGANG-KAMIEN u. LEOPOLD (1957) blockieren neben Atmungsgiften allgemein Sulfhydrilreagenzien den polaren IES-Transport; und LEOPOLD u. PRICE (1958) konnten zeigen, daß TIBA in vitro mit SH-Gruppen reagiert.

Die zitierten Angaben zeigen die Vielzahl der Ansichten über die Primärwirkung der TIBA. Man sollte aber beachten, daß TIBA eine körperfremde Substanz ist und daß es deshalb unwahrscheinlich ist, daß sie im Organismus nur eine einzige Primärwirkung hat. Allein die SH-Aktivität der TIBA ermöglicht eine Reihe unterschiedlicher Primärwirkungen.

Diese Arbeit beschäftigt sich nur mit einer der mutmaßlichen TIBA-Wirkungen: der Blockade des IES-Transportes. Es soll die Frage beantwortet werden: Wird nur die Leitung des Auxins in der Pflanze durch TIBA blockiert oder auch die Leitung anderer Substanzen? Diese Fragestellung erscheint auch deshalb besonders berechtigt, als neuerdings mehrfach aus dem Befund, daß durch TIBA oder einen der anderen oben angeführten Transport-Inhibitoren eine stoffliche Fernwirkung innerhalb der Pflanze unterbrochen werden kann, gefolgert wurde, daß der Träger dieser Fernwirkung Auxin sein muß.

Methodik

Testobjekte waren etiolierte Pflanzen von Pisum sativum, Sorte Senator; Testprozeß war das Austreiben von Seitenknospen nach erfolgter Dekapitation. Dabei wurden 2 Testmethoden angewandt:

Bei der *ersten Methode* wurden dekapitierte, aber sonst intakte Pflanzen verwendet, die in Kristallquarzsand wuchsen. Dekapitiert wurde, wenn nicht anders vermerkt, über der 2. Knospe (von unten, die Kotyledonarknospen nicht mitgezählt). Die zu untersuchenden Regulatoren wurden in Pastenform (Wollfett/Wasser = 1/1) zugeführt, entweder als Pastenkappe, die die Dekapitationsfläche bedeckte, oder als Pastenring, der an verschiedenen Stellen des Stengels angebracht wurde.

Pastenringe ohne Regulator waren ohne Einfluß auf die Pflanzen. Kontrollpflanzen erhielten keine Pastenringe, jedoch Pastenkappen aus Wollfett/Wasser ohne Regulator. Die Kappen wurden täglich erneuert, die Ringe nicht.

Die Pflanzen standen in Blumentöpfen. Da die austreibenden Knospen sehr auf geringe Unterschiede in der (täglichen) Wässerung reagierten, standen in jedem Topf eine Kontrollpflanze sowie je 1 Exemplar mit unterschiedlicher Behandlung, so daß die Variationen zwischen den einzelnen Töpfen auf dem Wege der Varianzanalyse ausgeglichen werden konnten.

Zwei Tage nach Dekapitation und Anbringung der Pasten wurde bei Grünlicht die Länge der austreibenden Knospe (das war stets die oberste) gemessen (Genauig-

keit: 0,5 mm). Einen Tag darauf wurden dieselben Knospen abgeschnitten und auf einer Torsionswaage gewogen (Genauigkeit: 0,05 mg).

Zu jedem Versuch gehörten 8 Töpfe mit einer je nach der Zahl der Behandlungen unterschiedlichen Anzahl von Pflanzen. Jede Versuchsserie umfaßte durchschnittlich 5 gleichartige Versuche, so daß jeder mitgeteilte Wert ein Mittelwert aus durchschnittlich $5 \times 8 = 40$ Einzelwerten ist. Die Ergebnisse der Längenmessungen gingen unmittelbar in die Varianzanalyse ein, die Gewichte nach logarithmischer Transformation, da auf diese Weise Homogenität der Varianzen erreicht wurde (Bartlett-Test). Jede Versuchsserie enthielt demnach 4 Variable: Konzentration der TIBA; Konzentration des Regulators, dessen Leitung in der Pflanze unter dem Einfluß von TIBA untersucht werden sollte; Wiederholung innerhalb jedes einzelnen Versuches, bezeichnet als „Töpfe"; Wiederholung der Versuche, bezeichnet als „Versuche". Die Fehlervarianz wurde aus den 3- und 4fachen Wechselwirkungen (die nie signifikant voneinander abwichen) sowie den nicht signifikant abweichenden 2fachen Wechselwirkungen gepoolt.

Bei der *zweiten Methode* dienten dekapitierte, wurzellose Schnittlinge als Testobjekte. Sie waren direkt über den Kotyledonen und im 3. Internodium geschnitten, standen zu je 4 in Bechergläsern mit 10 ml 4%iger Saccharoselösung, der die zu untersuchenden Regulatoren zugesetzt waren, und waren mit Pastenringen versehen. Je 2 Gläser wurden mit je 4 gleichartig behandelten Schnittlingen beschickt, so daß auch hier jede Versuchsserie dieselben 4 Variablen umfaßte wie bei der ersten Methode, nur daß die Varianz innerhalb jedes einzelnen Versuches, bezeichnet als „Gläser", nur 1 Freiheitsgrad hatte statt 7 bei der ersten Methode (bezeichnet als „Töpfe"). Als Fehlervarianz diente die Varianz innerhalb der Gläser; sie war nie signifikant kleiner als die Varianz zwischen den Gläsern mit gleicher Beschickung und als die zur Restvarianz zusammengefaßten, nicht signifikant voneinander abweichenden 3-, 4- und eventuell 2fachen Wechselwirkungen. Bei dieser Methode waren die austreibenden Knospen verständlicherweise kleiner, deshalb wurden für die Varianzanalyse die Logarithmen der Gewichte um 1,0 vermehrt.

Einfluß von TIBA auf den basipetalen Transport von IES, PCIB und NMSP

Die Berichte anderer Autoren über die Blockade des basipetalen IES-Transports wurden mit einer Methode bestätigt, wie sie unten für den PCIB-Transport beschrieben wird. Die TIBA-Konzentration mußte im Vergleich zu der von anderen Autoren (z. B. KUSE 1953) meist angewandten, von 2 auf 0,1% gesenkt werden, da höher konzentrierte Pasten an den (etiolierten!) Versuchspflanzen an der behandelten Stengelpartie Einschnürungen und nekrotische Braunverfärbung induzierten und deshalb eine gehemmte IES-Leitung durch diese Zone fast selbstverständlich ist. Bei Anwendung 0,25%iger TIBA-Ringe hatten bis zu 30% der Versuchspflanzen an der behandelten Stengelpartie Einschnürungen. Von 1% an zeigten sich nekrotische Veränderungen in unmittelbarer Knospennähe. TIBA-Konzentrationen bis zu 0,1% waren ohne morphologisch und mikroskopisch wahrnehmbare Schädigungen, hemmten aber deutlich den IES-Transport.

Wenn man die Dekapitationsfläche von Pisum-Pflanzen mit α-4-Chlorphenoxyisobuttersäure (PCIB) versieht, wird dadurch das Austreiben der Knospen gehemmt. Es gibt keine stimulierende PCIB-Konzentration; die maximale Hemmung wird durch PCIB 0,5% ausgeübt. Das Zustandekommen dieser Hemmung wird an anderer Stelle diskutiert werden.

Ein zwischen die PCIB-Kappe und die austreibende Knospe gelegter TIBA-Ring verminderte die PCIB-Wirkung auf die Knospe stark (Tabelle 1, erste Versuchsserie). Die Signifikanz der Hemmungsaufhebung

Tabelle 1. *Einfluß von TIBA auf die knospenhemmende Wirkung von PCIB*
Dekapierte Pflanzen in Töpfen. Kappe: PCIB 0,5%. Ring: TIBA 0,1% oder 0,32%, zwischen Kappe und Knospe oder unter der Knospe. — Zwei Versuchsserien zu je 4 Versuchen. — Least significant difference (LSD) für die Längenmessungen: $LSD_{0,05} \approx 0{,}7$; $LSD_{0,01} \approx 0{,}9$; $LSD_{0,001} \approx 1{,}2$; für die Wägungen: $LSD_{0,05} \approx 0{,}18$; $LSD_{0,01} \approx 0{,}24$; $LSD_{0,001} \approx 0{,}30$.

			Ohne PCIB	PCIB-Kappe 0,5 %	Hemmung durch PCIB
TIBA 0,1% über Knospe	Länge mm	ohne TIBA	6,42	4,19	35%
		TIBA-Ring	5,16	4,69	9%
	Gewicht log mg	ohne TIBA	0,84	0,49	0,35
		TIBA-Ring	0,70	0,62	0,08
TIBA 0,32% unter Knospe	Länge mm	ohne TIBA	6,38	5,36	16%
		TIBA-Ring	5,13	4,06	21%
	Gewicht log mg	ohne TIBA	1,38	1,04	0,34
		TIBA-Ring	1,18	0,90	0,28

Tabelle 2. *Varianzanalysen der beiden Versuchsserien der Tabelle 1*

		Längen (mm)			Gewichte (log mg)		
		FG	*V*	*P*	*FG*	*V*	*P*
TIBA über Knospe	PCIB	1	58,46	$<0{,}001$	1	1,471	$<0{,}001$
	TIBA	1	4,69	—	1	0,001	—
	PCIB × TIBA	1	24,94	$<0{,}005$	1	0,525	$<0{,}05$
	Versuche				3	1,334	$<0{,}001$
	Rest (Fehler)	124	2,26		121	0,121	
TIBA unter Knospe	PCIB	1	34,55	$<0{,}001$	1	3,057	$<0{,}001$
	TIBA	1	51,89	$<0{,}001$	1	0,911	$<0{,}05$
	PCIB × TIBA	1	0,02	—	1	0,028	—
	Versuche	3	12,52	$<0{,}001$	3	1,287	$<0{,}001$
	Töpfe	7	4,63	$<0{,}005$	7	0,245	—
	Versuche × Töpfe	21	3,35	$<0{,}005$	21	0,284	$<0{,}05$
	Rest (Fehler)	93	1,33		93	0,138	

wird durch die Signifikanz der Wechselwirkung PCIB × TIBA (Tabelle 2) bewiesen.

Ich habe über die Aufhebung der PCIB-Wirkung durch TIBA in einer vorläufigen Mitteilung (Libbert 1958a) berichtet. Diese Hemmungsaufhebung unterblieb, wenn der TIBA-Ring nicht zwischen PCIB und Knospe gelegt wurde, sondern in gleicher Entfernung unter die Knospe (Tabelle 1, Varianzanalyse Tabelle 2). Die Wechselwirkung PCIB × TIBA ist dann nicht signifikant. Das gilt ebenso wie für die in Tabelle 1 dargestellte Versuchsserie mit 0,32% TIBA auch für Versuche

mit 0,1% (TIBA 0,32% war hier, weil relativ älteren Stengelpartien zugeführt, morphologisch ohne Wirkung). Das beweist, daß die TIBA-Wirkung wirklich den PCIB-Transport trifft und nicht etwa eine Wechselwirkung im Knospengewebe selbst stattfindet; vorausgesetzt, daß TIBA in acropetaler Richtung mindestens ebenso gut geleitet wird wie in basipetaler (s. unten).

Wenn man die Dekapitationsfläche mit α-(1-Naphthylmethylsulfid)-propionsäure (NMSP) versieht, wird dadurch das Austreiben der Knospen gefördert. Die maximale Förderung wird durch NMSP 0,5% erzielt; das Zustandekommen dieser Förderung wird an anderer Stelle diskutiert werden.

Ein zwischen die NMSP-Kappe und die austreibende Knospe gelegter TIBA-Ring verminderte die NMSP-Wirkung auf die Knospe in ähnlicher Weise wie die IES- und die PCIB-Wirkung (Tabelle 3, erste Versuchsserie): Bereits 0,05% TIBA hob die NMSP-Wirkung ganz auf. Die Signifikanz der Aufhebung der NMSP-Wirkung wird durch die Signifikanz der Wechselwirkung NMSP × TIBA ($<0{,}005$ für die Längenmessung, $<0{,}05$ für die Wägung) bewiesen.

Tabelle 3. *Einfluß von TIBA auf die knospenfördernde Wirkung von NMSP*
Dekapitierte Pflanzen in Töpfen. Kappe: NMSP 0,5%. Ring: TIBA 0,05 oder 0,16%, zwischen Kappe und Knospe oder unter der Knospe .— Drei Versuchsserien zu je 8 Versuchen. — LSD für die Längenmessungen: $LSD_{0,05} \approx 0{,}5$; $LSD_{0,01} \approx 0{,}65$; $LSD_{0,001} \approx 0{,}8$; für die Wägungen: $LSD_{0,05} \approx 0{,}12$; $LSD_{0,01} \approx 0{,}16$; $LSD_{0,001} \approx 0{,}21$.

			Ohne NMSP	NMSP-Kappe 0,5 %	Förderung durch NMSP
TIBA 0,05% über Knospe	Länge mm	ohne TIBA	4,31	5,35	24%
		TIBA-Ring	4,33	4,12	−5%
	Gewicht log mg	ohne TIBA	0,74	0,92	0,18
		TIBA-Ring	0,70	0,67	−0,03
TIBA 0,16% unter Knospe	Länge mm	ohne TIBA	4,82	5,84	21%
		TIBA-Ring	4,55	5,81	28%
	Gewicht log mg	ohne TIBA	1,16	1,28	0,12
		TIBA-Ring	1,13	1,23	0,10

In gleicher Weise wie bei PCIB wurde diese Versuchsserie wiederholt mit TIBA-Ringen, die unter die Knospe gelegt wurden. Dabei gab es keinen Einfluß der TIBA auf die NMSP-Wirkung, weder durch 0,16%ige TIBA (Tabelle 3) noch durch 0,05%ige (nicht dargestellt); die Wechselwirkung NMSP × TIBA war nicht signifikant ($>0{,}05$). Die TIBA-Wirkung ist demnach auf den NMSP-Transport gerichtet, wiederum gute acropetale Leitung der TIBA vorausgesetzt.

Versuche zur Polarität des TIBA-Transportes

Ich habe gezeigt, daß TIBA *dann* die PCIB- und NMSP-Wirkungen auf eine Knospe aufhebt, wenn der TIBA-Ring zwischen PCIB bzw. NMSP und Knospe, nicht aber, wenn er proximal der Knospe angebracht ist. Es gibt 2 Erklärungsmöglichkeiten: 1. TIBA blockiert den Transport der genannten Regulatoren, 2. TIBA antagonisiert deren Wirkungen im Knospengewebe, wird aber bei proximaler Zufuhr infolge mangelhafter Acropetal-Leitung oder aus anderen Gründen nicht wirksam. Folgende Versuche sollten über die Polarität des TIBA-Transportes Auskunft geben: Die Pflanzen wurden wie üblich dekapitiert; der TIBA-Ring wurde (ohne Zufuhr eines zweiten Regulators) entweder über oder unter der Knospe angebracht (Tabelle 4, erste Versuchsserie). Dabei wurden durch basipetale TIBA-Zufuhr stärkere Hemmungen erzielt; der Einfluß der „Richtung" (Tabelle 5) war signifikant.

(In Tabelle 4 wurden, da die Wägungen prinzipiell gleiche Ergebnisse lieferten, nur die Resultate der Längenmessungen mitgeteilt.)

Dieses Ergebnis beweist noch keinen bevorzugt basipetalen TIBA-Transport. Es gibt zwei weitere Erklärungsmöglichkeiten: 1. Bei distaler Anbringung des TIBA-Ringes dringt TIBA durch jüngere, zartere Gewebe vielleicht schneller ein, wodurch bevorzugt basipetale Leitung vorgetäuscht würde. 2. Proximal angebrachte TIBA blockiert den Transport eines aus basalen Teilen (Wurzeln oder

Tabelle 4. *Wirkung von TIBA auf die Knospen bei Zufuhr in acropetaler oder in basipetaler Richtung*

Ergebnisse der Längenmessung in mm. — Vier Versuchsserien: *Versuchsserie 1:* Pflanzen in Töpfen, im 3. Internodium dekapitiert. TIBA-Zufuhr als Ringpaste am 2. oder 3. Internodium. Gemessen: 2. Knospe. 10 Versuche. — *Versuchsserie 2:* Zweiknotige Schnittlinge (mit 1. und 2. Knospe) aufrecht in Gläsern mit 4%iger Zuckerlösung. TIBA-Zufuhr als Ringpaste am 2. oder 3. Internodium. Gemessen: 2. Knospe. 3 Versuche. — *Versuchsserie 3:* Einknotige Schnittlinge (mit 2. Knospe) aufrecht oder invers in Gläsern mit TIBA-Lösung (Konzentrationsangabe in g/ml) +4% Zucker. TIBA-Zufuhr aus der Lösung durch die basale oder apikale Schnittfläche. Gemessen: 2. Knospe. 5 Versuche. — *Versuchsserie 4:* Pflanzen in Töpfen, dekapitiert im 2. oder 3. Internodium. TIBA-Zufuhr als Ringpaste am 2. Internodium. Gemessen: die oberste stehengelassene (also 1. oder 2.) Knospe. 5 Versuche.

Versuchsserie	Richtung der TIBA-Zufuhr	TIBA-Konzentration 0 (0)	0,1%	0,3% (10^{-5})	1,0% (10^{-4})	$LSD_{0,01}$
1	basipetal		4,76	4,60	3,56	0,81
	acropetal		5,37	4,99	4,08	
2	basipetal		1,77	1,66	1,42	0,42
	acropetal		2,29	1,94	1,12	
3	basipetal	(3,84)		(2,90)	(2,19)	0,73
	acropetal	(3,74)		(2,74)	(1,91)	
4	basipetal	5,55	5,13	4,85	3,74	1,33
	acropetal	6,26	6,01	5,74	4,19	

Kotyledonen) stammenden, knospenhemmenden Faktors (vgl. LIBBERT 1955), dessen Fortfall eine zusätzliche Knospenförderung durch TIBA vortäuscht. Folgende 3 Versuchsserien sollen zwischen den 3 Möglichkeiten entscheiden:

1. (Zweite Versuchsserie in Tabelle 4.) Wurzeln und Kotyledonen als mögliche Lieferanten einer knospenhemmenden Substanz wurden entfernt, die sonst unverändert behandelten 2knotigen Schnittlinge wurden in Bechergläsern mit Saccharoselösung gehalten. Bei den geringen TIBA-Konzentrationen erfolgte stärkere Knospenhemmung durch basipetale TIBA-Zufuhr. Das schließt einen aus Wurzeln oder Keimblättern stammenden knospenhemmenden Einfluß als Ursache für die unterschiedliche TIBA-Wirkung bei basi- und bei acropetaler Zufuhr aus.

Bei der hohen TIBA-Konzentration hemmt der proximale TIBA-Ring stärker, denn an den empfindlicheren wurzellosen Schnittlingen verursachten 1%ige TIBA-Ringe bereits so starke nekrotische Einschnürungen, daß die Belieferung der Knospen mit Saccharose und Wasser erschwert war, wenn sich TIBA unterhalb der Knospe befand. — Die Wechselwirkung TIBA × Richtung (Tabelle 5) sowie die unterschiedliche Wirkung der 0,1%igen TIBA bei Zufuhr aus verschiedenen Richtungen (vgl. LSD in Tabelle 4) sind signifikant.

2. (Dritte Versuchsserie in Tabelle 4.) Einknotige Schnittlinge, die nur die 2. Knospe enthielten, wurden aufrecht oder invers in Bechergläsern gehalten, die außer Saccharose auch TIBA in wäßriger Lösung enthielten. TIBA wurde direkt durch die Schnittfläche aufgenommen. Die geringen Unterschiede zwischen den Exemplaren mit TIBA-Zufuhr von basal und von distal traten auch an den Kontrollen ohne TIBA auf (veränderte Richtung der Wasser- und Zuckerzufuhr), würden eher auf einen bevorzugt acropetalen TIBA-Transport deuten, sind aber insignifikant (Tabelle 5). Diese Versuchsserie zeigt deutlich, daß eine bevorzugt basipetale TIBA-Leitung nicht existiert.

Tabelle 5. *Ergebnis der Varianzanalysen der 4 Versuchsserien der Tabelle 4: Signifikanzangaben für einzelne Variationsursachen* (P-Werte)

		Versuchsserie			
		1	2	3	4
TIBA	Länge	$<0{,}001$	$<0{,}001$	$<0{,}001$	$<0{,}001$
	Gewicht	$<0{,}001$	$<0{,}001$	$<0{,}001$	$<0{,}001$
Richtung (basi- oder acropetal)	Länge	$<0{,}005$	—	—	$<0{,}01$
	Gewicht	$<0{,}001$	—	—	—
TIBA × Richtung	Länge	—	$<0{,}01$	—	—
	Gewicht	—	$<0{,}01$	—	—

3. (Vierte Versuchsserie in Tabelle 4.) Gleichaltrige Pflanzen mit Wurzeln und Kotyledonen wurden entweder im 3. oder im 2. Internodium dekapitiert. Bei ersteren trieb die 2., bei letzteren die 1. Knospe. TIBA wurde stets in der Mitte des 2. Internodiums zugeführt. Für die Pflanzen mit 2. Knospe war die TIBA-Zufuhr acropetal, für die mit austreibender erster Knospe basipetal. Die Differenzen zwischen den beiden Knospen waren bei allen TIBA-Konzentrationen dieselben wie bei den Kontrollen ohne TIBA-Zufuhr (Wechselwirkung TIBA × Richtung insignifikant: Tabelle 5); TIBA wirkte demnach aus acro- und basipetaler Richtung gleich stark. Der scheinbar bevorzugt basipetale TIBA-Transport verschwindet demnach, wenn die Zufuhr an durchweg gleichaltrigen Geweben stattfindet.

Die Versuche der Tabelle 4 beweisen, daß TIBA unter den vorliegenden Versuchsbedingungen acro- und basipetal gleich gut geleitet wird, daß aber

bei distaler Zufuhr (junge Gewebe) die TIBA-Aufnahme erleichtert ist und deshalb die Wirkung größer ist.

Um diejenigen TIBA-Konzentrationen ausfindig zu machen, die bei proximaler Zufuhr auf die Knospe ebenso stark wirken wie die bei distaler Zufuhr angewandten, wurden die TIBA-Konzentrations-Wirkungskurven für proximale Zufuhr ausgearbeitet. Gleichzeitig wurden je zwei zusätzlichen Kontrollpflanzen die beiden TIBA-Konzentrationen 0,1 und 0,05% distal verabreicht (Abb. 1). Unter meinen Versuchsbedingungen

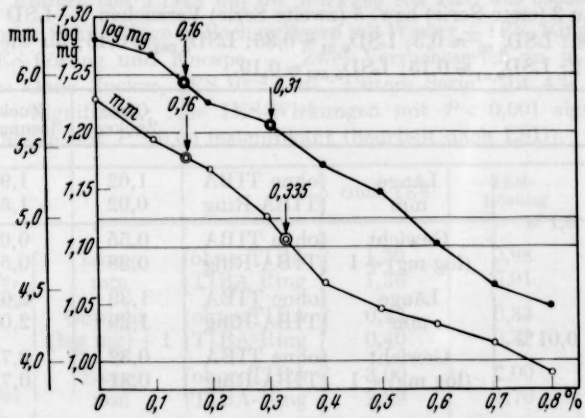

Abb. 1. Konzentrationswirkungskurven für TIBA bei Zufuhr als Paste an proximalen, ausgewachsenen Geweben. Obere Kurve: Knospengewicht in log mg. Untere Kurve: Knospenlänge in mm. — Abszisse: TIBA-Konzentration in %. Ordinate: Knospengewicht (log mg) für die obere, Knospenlänge (mm) für die untere Kurve. — Doppelt konturierte Punkte: Wirkungen von 0,05- bzw. 0,1 %iger TIBA bei Zufuhr als Paste an distalen, jungen Geweben, durch horizontale Verschiebung parallel der Abszisse in Koinzidenz mit den Wirkungskurven für Zufuhr an proximalen, ausgewachsenen Geweben gebracht. — Dekapitierte, sonst intakte Pflanzen

waren den distal gebotenen TIBA-Konzentrationen 0,1 bzw. 0,05% die proximal gebotenen Konzentrationen 0,32 bzw. 0,16% äquivalent. Deshalb wurden in den Versuchen der Tabellen 1 und 3 bei proximaler TIBA-Zufuhr die Versuche mit den letzgenannten Konzentrationen mitgeteilt. Obwohl bei diesen Versuchen mit proximaler TIBA-Zufuhr ebensoviel TIBA die Knospe erreichen mußte wie bei den Versuchen mit distaler, zwischen Knospe und PCIB bzw. NMSP gelegter Zufuhr, war bei den ersteren im Gegensatz zu den letzteren kein TIBA-Einfluß auf die Wirkung von PCIB bzw. NMSP festzustellen. *Damit ist sichergestellt, daß TIBA den Transport von PCIB und NMSP blockiert und nicht erst im Knospengewebe die Wirkung dieser Substanzen antagonisiert.*

Einfluß von TIBA auf den acropetalen Transport basal zugeführter Substanzen

Bei diesen Versuchen wurde mit der zweiten im Abschnitt „Methodik" angeführten Methode gearbeitet. Die jeweilige Testsubstanz drang als

wäßrige Lösung durch die basale Schnittfläche in die Schnittlinge ein. Der TIBA-Ring wurde unter die zweite (die austreibende) Knospe gelegt. Durch die basale Schnittfläche wurden zugeführt: 4%ige Saccharose (Tabelle 6), 0,03- und 0,01%iges KNO_3 (Tabelle 7) oder IES 10^{-6} und 10^{-5} g/ml (Tabelle 8). Die Saccharose förderte das Austreiben der

Tabelle 6. *Einfluß von TIBA auf die Wirkung von Saccharose*

Zweiknotige Schnittlinge in Bechergläsern mit Wasser ±4% Saccharose. Ring: TIBA 0,1 oder 0,01% zwischen Zuckerlösung und Knospe. — Zwei Versuchsserien zu 3 (erste Serie) bzw. 5 (zweite Serie) Versuchen. — LSD für die Längenmessungen: $LSD_{0,05} \approx 0{,}3$; $LSD_{0,01} \approx 0{,}35$; $LSD_{0,001} \approx 0{,}45$; für die Wägungen: $LSD_{0,05} \approx 0{,}12$; $LSD_{0,01} \approx 0{,}15$; $LSD_{0,001} \approx 0{,}19$.

			Ohne Zucker	Zucker-lösung 4 %
TIBA 0,1 %	Länge mm	ohne TIBA	1,62	1,94
		TIBA-Ring	0,92	1,58
	Gewicht (log mg) + 1	ohne TIBA	0,55	0,69
		TIBA-Ring	0,28	0,55
TIBA 0,01 %	Länge mm	ohne TIBA	1,39	2,03
		TIBA-Ring	1,29	2,06
	Gewicht (log mg) + 1	ohne TIBA	0,32	0,71
		TIBA-Ring	0,31	0,71

Tabelle 7. *Einfluß von TIBA auf die Wirksamkeit von KNO_3*

Zweiknotige Schnittlinge in Bechergläsern mit Wasser ± KNO_3 (eventuell + 4% Saccharose). Ring: TIBA 0,01 bzw. 0,05%, zwischen KNO_3-Lösung und Knospe. — Zwei Versuchsserien zu je 5 Versuchen.

			Ohne KNO_3	KNO_3-Lösung 0,03 %	KNO_3-Lösung 0,1 %	LSD 0,05	LSD 0,01	LSD 0,001
TIBA 0,01 %, ohne Zucker	Länge mm	ohne TIBA	1,41	1,65	1,32	0,22	0,29	0,38
		TIBA-Ring	1,43	1,64	1,11			
	Gewicht (log mg) + 1	ohne TIBA	0,34	0,38	0,25	0,09	0,12	0,15
		TIBA-Ring	0,32	0,39	0,18			
TIBA 0,05 %, + 4% Zucker	Länge mm	ohne TIBA	3,59	3,39	3,49	0,41	0,54	0,69
		TIBA-Ring	3,15	2,99	2,93			
	Gewicht (log mg) + 1	ohne TIBA	0,99	0,93	0,99	0,10	0,14	0,17
		TIBA-Ring	0,80	0,85	0,80			

Knospen; bei gleichzeitiger Anwesenheit von Saccharose war KNO_3 wirkungslos, ohne Saccharose förderte die niedrigere und hemmte die höhere KNO_3-Konzentration; beide IES-Konzentrationen hemmten das Austreiben (direkte Hemmung).

In keinem Fall wurde durch den zwischengelegten TIBA-Ring der Effekt der basal gebotenen Substanzen vermindert. Im Gegenteil: Wenn

ein 0,1%iger TIBA-Ring vorhanden war, förderte die Saccharose stärker als ohne TIBA (kausal wahrscheinlich richtiger: Bei Fehlen von Zucker, also einem Hungerzustand der Schnittlinge, übte TIBA stärkere Hemmung aus: Tabelle 6), aber diese Wechselwirkung TIBA × Zucker war nicht signifikant. Ähnlich bei KNO_3 (ohne Zucker): Mit TIBA-Ring war die Hemmung durch die höhere KNO_3-Konzentration (bei insignifikanter Wechselwirkung TIBA × KNO_3) stärker als ohne TIBA. Daß

Tabelle 8. *Einfluß von TIBA auf die Wirkung von IES aus basaler Richtung.*

Zweiknotige Schnittlinge in Bechergläsern mit Wasser ± IES. Ring: TIBA 0,1% zwischen IES-Lösung und Knospe. — Zwei Versuchsserien zu je 4 Versuchen. Obere Serie: Ohne Zucker, IES 10^{-6} g/ml. Untere Serie: Mit 4% Zucker, IES 10^{-5} g/ml. — Signifikanz: Alle IES-Wirkungen mit $P < 0{,}001$ signifikant; alle TIBA-Wirkungen mit $P > 0{,}05$ insignifikant (beurteilt nach LSD).

			Ohne IES	IES-Lösung	Hemmung durch IES
TIBA 0,1%, ohne Zucker, IES 10^{-6}	Länge mm	ohne TIBA	1,39	0,98	29%
		TIBA-Ring	1,36	0,91	33%
	Gewicht (log mg) + 1	ohne TIBA	0,42	0,33	0,09
		TIBA-Ring	0,40	0,31	0,09
TIBA 0,1%, Zucker 4%, IES 10^{-5}	Länge mm	ohne TIBA	3,00	2,00	33%
		TIBA-Ring	2,89	1,70	41%
	Gewicht (log mg) + 1	ohne TIBA	0,78	0,42	0,36
		TIBA-Ring	0,67	0,29	0,38

TIBA auch auf die Hemmung durch basal zugeführte IES keinen Einfluß hatte (Tabelle 8), ist bemerkenswert: TIBA blockiert demnach zwar den basipetalen, nicht aber den acropetalen, sicherlich mit dem Transpirationsstrom erfolgenden IES-Transport.

Einfluß von TIBA auf den acropetalen Transport basal zugeführten Hemmstoffes aus Erbsenpflanzen

Erbsenpflanzen enthalten zwei extrahierbare Inhibitoren, die in die korrelative Knospenhemmung eingreifen (Libbert 1955). Einer davon entsteht in der Wurzel, muß also (obwohl kein bevorzugt acropetales Leitvermögen besteht) im Sproß vorwiegend acropetal geleitet werden. Deshalb, und weil häufig über eine Aufhebung der Apikaldominanz durch TIBA berichtet wird, war der Einfluß von TIBA auf den acropetalen Transport extrahierbaren Hemmstoffes von Interesse.

Die neutralen Inhibitoren wurden, wie beschrieben (Libbert 1958b), aus grünen Erbsensprossen extrahiert, nicht voneinander getrennt und in einer 3mal höheren Konzentration verwendet, als sie in der Pflanze vorliegen (= HS 3/1). Es wurde dieselbe Becherglasmethode angewandt wie in den Versuchen des vorigen Abschnitts.

Tabelle 9. *Einfluß von TIBA auf die Wirkung von Inhibitorextrakt (= HS) 3/1 aus basaler Richtung*

Zweiknotige Schnittlinge in Bechergläsern mit Wasser (± Zucker) ± Inhibitor. TIBA: 0; 0,01—0,1%. Ergebnisse der Längenmessung (Wägung s. Abb. 2). — Vier Versuchsserien: *Serie 1*: TIBA-Ring zwischen Inhibitorlösung und Knospe; ohne Zucker. — *Serie 2*: dito; aber mit 4% Saccharose. — *Serie 3:* TIBA-Kappe auf der oberen Schnittfläche; 4% Saccharose. — *Serie 4:* TIBA-Ring über der Knospe; 4% Saccharose. — Je Versuchsserie 5 (Serie 1, 3 und 4) bzw. 6 (Serie 2) Versuche. — $LSD_{0,05} \approx 0{,}25$; $LSD_{0,01} \approx 0{,}35$; $LSD_{0,001} \approx 0{,}45$.

Versuchsserie		TIBA-Konzentration 0	0,01 %	0,05 %	0,1 %
1	ohne HS	2,68	2,01	1,91	1,98
	3/1 HS	2,15	2,09	2,06	1,99
2	ohne HS	3,26	2,89	2,79	2,62
	3/1 HS	2,76	2,85	2,76	2,75
3	ohne HS	3,78	2,59	2,31	2,06
	3/1 HS	3,14	2,43	2,21	2,22
4	ohne HS	3,05	2,55	2,41	2,28
	3/1 HS	2,55	2,11	2,05	1,74

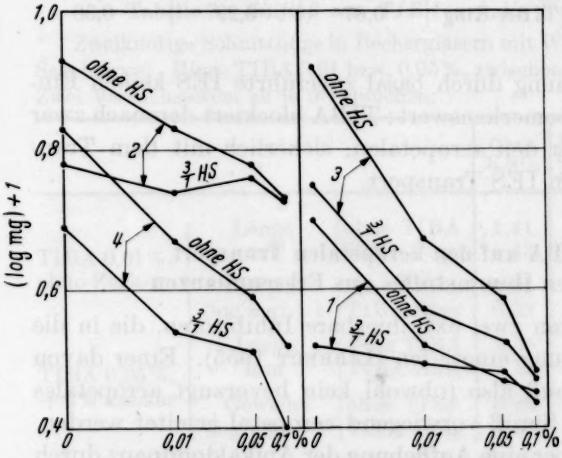

Abb. 2. Aufhebung der knospenhemmenden Wirkung von Hemmstoffextrakten durch TIBA-Paste. — Zweiknotige Schnittlinge in Bechergläsern mit Wasser (± Saccharose) ± Inhibitor (= HS). — Abszisse: TIBA-Konzentration in %. Ordinate: Knospengewicht log mg. — Vier Versuchsserien: *Serie 1:* TIBA-Ring zwischen Inhibitorlösung und Knospe; ohne Zucker (Hemmungsaufhebung). — *Serie 2:* dito; aber mit 4% Zucker (Hemmungsaufhebung). — *Serie 3:* TIBA-Kappe auf der oberen Schnittfläche; mit 4% Zucker (Hemmungsaufhebung). — *Serie 4:* TIBA-Ring über der Knospe; mit 4% Zucker (keine Hemmungsaufhebung)

Der Inhibitorextrakt hemmte die austreibende Knospe. Ein zwischen den Ort der Hemmstoffzufuhr (basale Schnittfläche) und die Knospe gelegter TIBA-Ring verminderte die Inhibitorwirkung und hob sie in genügend hoher Konzentration ganz auf (Tabelle 9 und Abb. 2, jeweils Versuchsserien 1 und 2). Die Wechselwirkung TIBA × HS war signifikant (Tabelle 10). Wurde dagegen der TIBA-Ring nicht zwischen den Ort der Hemmstoffzufuhr und die Knospe, sondern über die Knospe gelegt, dann wurde die Inhibitorwirkung nicht durch TIBA vermindert (Tabelle 9 und Abb. 2, jeweils Versuchsserie 4); es existierte dann keine Wechselwirkung TIBA × HS (Tabelle 10). *Damit ist bewiesen, daß TIBA den acropetalen Transport der wirksamen Bestandteile des Inhibitorextrakts blockiert.*

Wurde TIBA dagegen als Kappenpaste geboten, die die apikale Schnittfläche der Schnittlinge bedeckte, dann gab es (Tabelle 9 und 10, Abb. 2, jeweils Versuchsserie 3) eine signifikante Aufhebung der Inhibitorwirkung, obwohl sich der Ort der TIBA-Zufuhr nicht zwischen den Orten der Hemmstoffzufuhr und -wirkung befand. Das muß mit dem Transport der

Tabelle 10. *Ergebnis der Varianzanalysen der 4 Versuchsserien der Tabelle 9 und Abb. 2: Signifikanzangaben für einzelne Variationsursachen (P-Werte)*

		Versuchsserie			
		1	2	3	4
HS	Länge	—	—	—	$<0{,}001$
	Gewicht	$<0{,}05$	$<0{,}005$	$<0{,}001$	$<0{,}001$
TIBA	Länge	$<0{,}001$	$<0{,}01$	$<0{,}001$	$<0{,}001$
	Gewicht	$<0{,}001$	$<0{,}001$	$<0{,}001$	$<0{,}001$
HS × TIBA	Länge	$<0{,}001$	$<0{,}01$	$<0{,}01$	—
	Gewicht	$<0{,}01$	$<0{,}05$	—	—

TIBA erklärt werden, der durch direktes Aufbringen der Paste auf die Schnittfläche erleichtert wurde. Dadurch gelangte TIBA schnell in die Gewebe basal der 2. Knospe und blockierte dort den Inhibitortransport.

Diskussion

Unter den Bedingungen der vorliegenden Versuche war der Transport von TIBA in acro- und basipetaler Richtung gleich. Dostál (1958, 1959) versah unter ähnlichen Versuchsbedingungen dekapitierte Pflanzen von Pisum und Vicia faba mit einem TIBA-Ring und beobachtete eine Schwellung direkt unter der Dekapitationsfläche. Er erklärte das mit bevorzugt acropetalem TIBA-Transport und einem Mitreißen von Nährstoffen durch TIBA. Die vorliegenden Ergebnisse widersprechen dieser Interpretation.

Die Wirkungen von PCIB, NMSP und von Hemmstoffextrakt aus Pisum-Pflanzen wurden aufgehoben, wenn zwischen den Ort der Substanzzufuhr und den Ort der Substanzwirkung ein TIBA-Ring gelegt wurde. An anderen Stellen angebrachte TIBA-Ringe hatten keine solche Wirkung. Das beweist, daß der Transport dieser Substanzen ebenso durch TIBA blockiert wird wie der IES-Transport. Es ist anzunehmen, daß der Transport weiterer Substanzen gleicherweise durch TIBA blokkiert wird. Eine Aussage über den Mechanismus der Transportblockade ist schwierig, da weder der Transportmechanismus der IES noch der der übrigen Substanzen bekannt ist. Vielleicht ist der Transport aller dieser Substanzen mit Energieaufwand verbunden und unterbricht TIBA als SH-Reagens die energieliefernden Prozesse.

Kuse untersuchte 1958 die Beziehungen zwischen IES, Gibberellinsäure und TIBA. Er stellte die Alternative, daß TIBA entweder den Gibberellinsäuretransport blockieren müsse oder durch Blockade des IES-Transportes die (beim Fehlen von Auxin unterbundene) Gibberellinsäurewirkung verhindere. Er entschied sich für die zweite Erklärung, ohne zu erwägen, daß TIBA den Transport beider Substanzen blockieren könne. Einige Ergebnisse Kuses scheinen aber auf diese Möglichkeit hinzudeuten.

Verschiedentlich wurde versucht, die ursächliche Beteiligung von Auxin an bestimmten korrelativen Wirkungen dadurch zu beweisen, daß die betreffenden Korrelationen durch TIBA aufgehoben werden konnten oder durch andere Substanzen, die den Auxintransport blockieren können (Na-Glykocholat, 9-Anthronsäure; CHAMPAGNAT u. PIGERET 1957, HUGON 1957). Mit TIBA haben solche Versuche nach den Ergebnissen dieser Arbeit keine Beweiskraft, da auch der Transport anderer Substanzen durch TIBA blockiert wird. Mit anderen Transportinhibitoren müssen sie ebenfalls so lange ohne Beweiskraft bleiben, bis gezeigt wird, daß nur der Transport von Auxin durch die betreffenden Substanzen blockiert wird.

Natürlich wird nicht jeder Stofftransport in der Pflanze durch TIBA blockiert. Schon die Versuche dieser Arbeit zeigen, daß mit dem Transpirationsstrom geleitete Stoffe (einschließlich acropetal geleitetem Auxin) nicht durch TIBA aufgehalten werden. Unwahrscheinlich ist auch, daß TIBA vor allem die Stoffleitung im Phloem blockiere, denn HEINZE (1958) bzw. KESSLER u. MOSCICKI (1958) zeigten, daß nach Besprühen mit TIBA der Abtransport von Kohlenhydraten bzw. von Calcium und Eisen aus Blättern beschleunigt wird.

Die an der korrelativen Knospenhemmung beteiligten biogenen Hemmstoffe waren die einzigen untersuchten Substanzen, deren acropetaler Transport durch TIBA unterbunden wurde. Das beweist, daß die Leitung dieser Inhibitoren kein Mitreißen mit dem Transpirationsstrom, sondern wahrscheinlich ein aktiver Prozeß ist, und unterstreicht einmal mehr die physiologische Bedeutung dieser Substanzen.

Dieser Befund muß im Zusammenhang damit beachtet werden, daß nach einer TIBA-Behandlung (meist Besprühung) die Apikaldominanz vermindert wird. Abgesehen davon, daß auch indirekte Effekte (Hemmung der Gipfelknospe durch TIBA) oft ausschlaggebend beteiligt sein werden, deutet man solche Erscheinungen als Interferenz mit dem Auxinstoffwechsel. Eine Interferenz mit den Korrelationshemmstoffen ist nach den vorliegenden Ergebnissen ebenso in Betracht zu ziehen.

Allerdings fand SNYDER (1949), daß bei intakten und dekapitierten Pflanzen nur oberhalb der Knospen angebrachte TIBA-Ringe das Knospentreiben förderten; unterhalb der Knospen waren sie wirkungslos. Dazu ist zu bemerken: Bei dekapitierten Pflanzen ist kein Einfluß eines TIBA-Ringes unter der Knospe zu erwarten, da nach der Dekapitation nicht der aus Wurzeln (und eventuell vorhandenen grünen Blättern) stammende Hemmstoff a (= Korrelationshemmstoffvorstufe) begrenzender Faktor für die Bildung des Hemmstoffes b (= Korrelationshemmstoff) ist, sondern Auxin (LIBBERT 1955), das die Entstehung von Korrelationshemmstoff aus der Vorstufe veranlaßt. Auch bei intakten grünen Pflanzen ist kein Einfluß zu erwarten, da nach einer Blockade des von basal kommenden Hemmstoffstromes noch genügend Hemmstoff a aus den apikal der Knospen vorhandenen grünen Blättern kommen würde, um die Bildung des Korrelationshemmstoffes aufrechtzuerhalten. Mit einer Verminderung der korrelativen Hemmung durch basal der

Knospe angebrachte TIBA ist dagegen bei intakten etiolierten Pflanzen zu rechnen, da hier die Wurzel die einzige Quelle für den Hemmstoff a ist; das gleiche gilt für grüne Pflanzen, die zu einem Zeitpunkt mit einem TIBA-Ring versehen wurden, zu dem oberhalb der TIBA noch keine Blätter vorhanden waren.

In einer Reihe verschieden angelegter Versuche mit intakten Pflanzen ist es mir jedoch nie gelungen, die Apikaldominanz durch TIBA-Ringe *ganz* aufzuheben, weder durch Ringe ober- noch unterhalb einer Knospe. Bei intakten Pflanzen war offensichtlich der Effekt der TIBA-Pasten zu gering, um den Inhibitor- und auch den Auxintransport so weitgehend zu stoppen.

Wurde jedoch an intakten (etiolierten oder grünen) Pflanzen in der Mitte des 3. Internodiums *dann* ein TIBA-Ring angebracht, wenn dieses noch nicht ausgewachsen war (also oberhalb des Ringes keine Blätter vorhanden waren), dann konnte dadurch eine deutliche Verminderung der Apikaldominanz erreicht werden (Tabelle 11), und zwar sowohl an den unterhalb des Ringes stehenden Knospen als auch an den oberhalb davon befindlichen. Bei den unteren Knospen kann es sich um eine Wirkung auf den Transport des nativen Auxins handeln, bei den oberen Knospen dagegen mit großer Wahrscheinlichkeit nicht, sondern auf den Transport der acropetal strömenden, nativen Inhibitoren.

Tabelle 11. *Einfluß von TIBA-Ringen im 3. Internodium intakter Pflanzen auf die Länge der nächsttieferen (2.) und der nächsthöheren (3.) Knospen.*

Zahlen: Knospenlängen in mm, Mittelwerte aus 1 Versuch mit etiolierten und 1 Versuch mit grünen Pflanzen. — $LSD_{0,05} = 0{,}3$; $LSD_{0,01} = 0{,}4$; $LSD_{0,001} = 0{,}55$.

	TIBA-Konzentration				
	0	0,01 %	0,03 %	0,1 %	0,3 %
Untere Knospe	1,6	1,8	1,9	1,9	2,1
Obere Knospe	0,9	1,0	1,0	1,1	1,6

Bei varianzanalytischer Auswertung waren in diesen Versuchen der Einfluß der TIBA, der Unterschied zwischen den 2. und 3. Knospen sowie der Unterschied zwischen etiolierten und grünen Pflanzen (bei letzteren waren die Knospen allgemein länger) mit $P < 0{,}001$ signifikant; alle Wechselwirkungen einschließlich derjenigen TIBA × (2. oder 3. Knospe) waren insignifikant.

Summary

The effect of 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA) on the translocation of various substances within etiolated pea plants was tested by applying the substances to different places on the decapitated plants and measuring the effect of the substances on the growth of lateral buds after placing a lanolin ring containing TIBA around the stem between the place of application of the substance and the buds. In control experiments the TIBA-ring was placed in such a way, that TIBA and the other substance reached the bud from opposite directions.

TIBA blocked the basipetal translocation of indole-3-acetic acid, α-4-chlorophenoxyisobutyric acid and α-(1-naphthylmethylsulfid)propionic

acid, it did not block the acropetal translocation of sucrose, potassium nitrate and indole-3-acetic acid. It did however block the acropetal translocation of native inhibitors (correlation inhibitors) extracted from pea plants. It is concluded that TIBA is a general blocker of the energy requiring translocation of many substances in plants. Moreover TIBA produces various different effects.

Intensity of translocation of TIBA was equal in both directions, acropetal and basipetal. Application of TIBA to more distal points of the stem may cause greater effects because of a faster migration through younger tissues into the stem.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. BURSTRÖM, Lund, und Herrn Dr. B. ÅBERG, Uppsala, die mir PCIB bzw. NMSP zur Verfügung stellten, sowie Frau C. SASSE und Frl. M. GNEVKOW, deren Hilfe bei der technischen Durchführung der Arbeit mir wertvoll und unentbehrlich war.

Literatur

ÅBERG, B.: On the interaction of 2,3,5-triiodobenzoic acid and maleic hydrazide with auxins. Physiol. Plantarum (Cph.) **6**, 277 (1953). — AUDUS, L. J.: Auxin antagonists and synergists. A critical approach. New Phytol. **53**, 461 (1954). AUDUS, L. J., and R. THRESH: The effects of synthetic growth-regulator treatments on the level of free endogenous growth-substances in plants. Ann. Bot., N. S. **20**, 439 (1956). — CHAMPAGNAT, P., et C. PIGERET: Action comparée de glycocholate de sodium (NaG) et de l'acide triiodobenzoique (T.I.B.A.) sur la stimulation exercée par le cotylédon de lin sur son bourgeon axillaire. Rev. gén. Bot. **64**, 307 (1957). — DOSTÁL, R.: Experiments in plant polarity. Stud. Plant Physiol. (Praha) 33 (1958). — Versuche zur apikalen Dominanz in der Pflanzenmorphologie. Acta Acad. Sci. Cech. Basis Brunensis **31**, 1 (1959). — GALSTON, A. W.: The effect of 2,3,5-triiodobenzoic acid on the growth and flowering of soybeans. Amer. J. Bot. **34**, 356 (1947). — GORTER, C. J.: Abscission as a bio-assay for the determination of plant regulators. Physiol. Plantarum (Cph.) **10**, 858 (1957). — HACCIUS, B., u. H. NIES: Über die Wirkung von 2,3,5-Trijodbenzoesäure und 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure auf die Abgliederung entspreiteter Blattstiele. Planta (Berl.) **47**, 613 (1956). — HAY, J. R.: The effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,3,5-triiodobenzoic acid on the transport of indoleacetic acid. Plant Physiol. **31**, 118 (1956). — HEINZE, W.: Untersuchungen über den Kohlenhydrathaushalt bei Tomaten nach Behandlung mit 2,3,5-Trijodbenzoesäure. Naturwiss. **45**, 169 (1958). — HUGON, E.: Influence de l'acide-9 anthronique sur les corrélations entre le cotylédon et son bourgeon axillaire. C. R. Acad. Sci. (Paris) **245**, 2072 (1957). — KANDLER, O., u. E. FINK: Über den Einfluß von 2,3,5-Trijodbenzoesäure auf den Stoffwechsel in vitro kultivierter Maiswurzeln. Flora (Jena) **142**, 295 (1955). — KESSLER, B., and Z. W. MOSCICKI: Effect of triiodobenzoic acid and maleic hydrazide upon the transport of foliar applied calcium and iron. Plant Physiol. **33**, 70 (1958). — KUSE, G.: Effect of 2,3,5-triiodobenzoic acid on the growth of lateral bud and on tropism of petiole. Mem. Coll. Sci. Univ. Kyoto, Ser. B **20**, 207 (1953). — Bud inhibition and correlative growth of petiole in sweet potato stem. Mem. Coll. Sci. Univ. Kyoto, Ser. B **21**, 107 (1954). — Necessity of auxin for the growth effect of gibberellin. Bot. Mag. (Tokyo) **71**, 151 (1958). — LEOPOLD, A. C., and W. H. KLEIN: Maleic hydrazide as an antiauxin in plants. Science **114**, 9 (1951). — LEOPOLD, A. C., and C. A. PRICE: Sulfhydryls in plants. I. Reactions with growth regulators.

Plant Physiol. **32**, 520 (1958). — LIBBERT, E.: Nachweis und chemische Trennung des Korrelationshemmstoffes und seiner Hemmstoffvorstufe. Planta (Berl.) **45**, 405 (1955). — Wechselwirkungen zwischen Auxinen und Inhibitoren bei Keimungsversuchen. Phyton (Argentina) **9**, 81 (1957). — Einfluß der Trijodbenzoesäure (TIBA) auf die Wirkstoffleitung im Pflanzenstengel. Naturwiss. **45**, 20 (1958a). — Der primäre Angriffsort pflanzeneigener Hemmstoffe. Physiol. Plantarum (Cph.) **11**, 516 (1958b). — LINSER, H.: Zur Wirkungsweise von Wuchs- und Hemmstoffen. IV. Die Konzentrations-Wirkungskurven einiger synthetischer Zellstreckungswuchsstoffe in Gegenwart verschiedener Mengen von synthetischen Hemmstoffen. Biochem. biophys. Acta **15**, 25 (1954). — MCRAE, D. H., and J. BONNER: Chemical structure and antiauxin activity. Physiol. Plantarum (Cph.) **6**, 485 (1953). — MEIJER, G.: The influence of light and of growth regulators on the elongation of gherkin seedlings. Acta bot. neerl. **7**, 621 (1958). — MEYER, J.: Die photolytischen Abbauprodukte der 3-Indolessigsäure und ihre physiologische Wirkung auf das Wachstum der Avena-Koleoptile. Z. Bot. **46**, 125 (1958). — MORGAN, D. G., u. H. SÖDING: Über die Wirkungsweise von Phthalsäuremono-α-Naphthylamid (PNA) auf das Wachstum der Haferkoleoptile. Planta (Berl.) **52**, 235 (1958). — MUIR, R. M., and C. HANSCH: On the action of growth regulators. Plant physiol. **28**, 218 (1953). — NAGAO, M., and Y. OHWAKI: The action of transcinnamic and 2,3,5-triiodobenzoic acids in the rice seedlings. Sci. Rep. Tohoku Univ., Ser. IV **21**, 96 (1955). — NIEDERGANG-KAMIEN, E., and A. C. LEOPOLD: Inhibitors of polar auxin transport. Physiol. Plantarum (Cph.) **10**, 29 (1957). — NIEDERGANG-KAMIEN, E., and F. SKOOG: Studies on polarity and auxin transport in plants. I. Modification of polarity and auxin transport by triiodobenzoic acid. Physiol. Plantarum (Cph.) **9**, 60 (1956). — POHL, R.: Das Wuchsstoff/Hemmstoffproblem der höheren Pflanze. Naturwiss. **39**, 1 (1952). — SNYDER, W. E.: Some responses of plants to 2,3,5-triiodobenzoic acid. Plant Physiol. **24**, 195 (1949). — STREET, H. E.: Factors controlling meristematic activity in excised roots VI. Effects of various "antiauxins" on the growth and survival of excised roots of Lycopersicum esculentum, Mill. Physiol. Plantarum (Cph.) 8, 48 (1955). — THIMANN, K. V., and W. D. BONNER: The action of triiodobenzoic acid on growth. Plant Physiol. **23**, 158 (1948). — TUKEY, H. B., F. W. WENT, R. M. MUIR and J. VAN OVERBEEK: Nomenclature of chemical plant regulators. Plant Physiol. **29**, 307 (1954). — WAARD, J. DE, and P. A. FLORSCHÜTZ: On the interaction of 2,3,5-triiodobenzoic and indole-3-acetic acid in growth processes. Proc. kon. ned. Akad. Wet. **51**, 1317 (1948).

Prof. Dr. EIKE LIBBERT, Abteilung Botanik der Veterinärmedizinischen Fakultät, Humboldt-Universität, Berlin N 4, Hannoversche Str. 27/29

Planta 53, 628—646 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

ZUR PHYSIOLOGIE DER GESCHLECHTSDIFFERENZIERUNG BEI *SPLACHNUM LUTEUM**

Von

LEOPOLD BAUER

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. April 1959)

Das Problem der Geschlechtsdifferenzierung ist bei den Laubmoosen bisher am erfolgreichsten unter genetischen Aspekten bearbeitet worden (vgl. CORRENS 1928 und HARTMANN 1956; zuletzt durch HOFFMANN 1956 und 1957). Über die Prozesse, welche die geschlechtliche Phase der Entwicklung einleiten und beherrschen, sind wir jedoch noch ganz unzureichend unterrichtet.

Die physiologische Seite des Problems ist vielschichtig. Es gilt, falls morphologische *Unterschiede der Geschlechter* faßbar sind, dafür auch ein physiologisches Korrelat zu finden. „Allen bisher bei Laubmoosen beobachteten Formen des Geschlechtsdimorphismus ist gemeinsam, daß der männliche Gametophyt in allen oder wenigstens in einem Teil seiner Organe schwächer entwickelt ist als der weibliche" (HOFFMANN 1957, S. 384). Damit ist schon eine gewisse physiologische Aussage verbunden. Hier verdient auch die an verschiedenen Objekten gemachte Beobachtung hervorgehoben zu werden, daß das ♂ Geschlecht eine kürzere Reifezeit hat als das ♀ (v. WETTSTEIN 1924 bei haplodiözischen und diplodiözischen Sippen von *Bryum caespititium*; HOFFMANN 1956 bei dem haplodiözischen *Bryum capillare* und 1957 bei der haplodiözischen *Barbula unguiculata*). Bei den haplomonözischen Funariaceen (v. WETTSTEIN 1924, 1928) tritt das ♂ Geschlecht unter natürlichen Bedingungen ebenfalls stets *vor* dem ♀ auf; damit im Zusammenhang dürfte stehen, daß das ♂ Geschlecht (eingehender untersucht bei *Funaria hygrometrica* [SCHELLENBERG 1920]) zur Hervorbringung der Geschlechtsorgane meist ein geringeres Lichtbedürfnis als das ♀ hat.

Ferner gilt es, die Prozesse aufzuhellen, welche die *Geschlechtsreife* einleiten und fördern. Sind sie von vornherein geschlechtsspezifisch oder sind Teilabschnitte dieses Entwicklungsablaufes anfänglich beiden Geschlechtern gemeinsam? In dieser Hinsicht liegen noch kaum Beobachtungen vor. Experimentell geprüft wurde der Einfluß der Lichtstärke auf die Geschlechtsreife (SCHELLENBERG).

* Die Arbeit wurde bei ihrer Anlegung meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. OTTO RENNER, zu seinem 75. Geburtstage gewidmet. Sie konnte leider erst jetzt, mit einjähriger Verspätung, zum Druck gegeben werden.

Schließlich stellt sich auch die Frage nach einer *gegenseitigen Beeinflussung* der Differenzierungsprozesse beider Geschlechter.

Die vorliegende Arbeit hat das Ziel, an einem günstigen Objekt, dem haplodiözischen *Splachnum luteum*, Beiträge zu den angedeuteten Teilproblemen und damit Ansatzpunkte für eine weitere physiologische Analyse zu liefern.

Material und Kulturmethode

Das Ausgangsmaterial verdanke ich Herrn Dr. Hunck, der es in Finnland sammelte. Das Moos ist haplodiözisch, wie zahlreiche Einsporkulturen erwiesen. Außer den beiden haploiden ♂ und ♀ Klonen verwendete ich für einen Teil der Versuche auch colchizinierte Sippen, welche nach Organ- und Zellgröße als diploid gelten müssen und im folgenden unter dem Vorbehalt cytologischer Nachprüfung auch so bezeichnet werden (♂♂ und ♀♀), sowie den gemischtgeschlechtigen Sporogonregenerat-Gametophyten aus selbstgezogenen Sporogonen [(☿)♀] bzw. [(☿)♂].

Alle Sippen wurden auf 1,5%igem Agar (Nährsalze modifiziert nach Benecke, vgl. Bauer 1957) herangezogen. Die Versuche wurden in Reagensgläsern und Kulturschalen unter sterilen Bedingungen durchgeführt. Die Lichtintensität (Leuchtstofflampe, Dauerlicht) betrug für die Anzucht 300 bzw. 400 Lux, für die Versuche 1500 bzw. 2000 Lux. Bei quantitativer Auswertung der Versuche wurde die Temperatur (20° C) konstant gehalten; im übrigen betrug sie in den Wintermonaten 22° C $\pm$ 1,5° und in den Sommermonaten 23° C $\pm$ 1,5°. Die Ergebnisse der Versuche, die öfters wiederholt wurden, zeigten sich von den geringen Temperaturschwankungen unbeeinflußt.

I. Die morphologischen Unterschiede der Geschlechter

Die morphologischen Daten beziehen sich alle auf in Kultur herangezogene Pflanzen. Diese mögen vielleicht im einzelnen kleine Unterschiede zu den Pflanzen am natürlichen Standort aufweisen; für den Vergleich der Geschlechter ist dies aber im Zusammenhang der Arbeit unerheblich.

1. Der allgemeine Habitus. Die ♀ unterscheiden sich stark von den ♂ Pflanzen: Sie haben gedrungeneren Wuchs und sind insgesamt kräftiger als die ♂; ihre Perichätialblätter umschließen den Gametangienstand fest, so daß er wie eine Knospe aussieht. Bei den ♂ Pflanzen stehen die Blätter der vegetativen Region (Laubblätter) locker an schlanken Stämmchen, die Perichätialblätter spreizen ihre langen Spitzen sparrig nach außen.

2. Die Gestalt der Blätter. *a) Laubblätter.* Sie sind bei den ♂ Pflanzen kleiner und tragen etwas kürzere Spitzen als bei den ♀. Das Verhältnis von Länge zu Breite beträgt bei beiden etwa 1,8. Der basale Teil des Blattrandes ist bei den Männchen innenkonkav, bei den Weibchen dagegen innenkonvex gebogen (Abb. 1).

b) Perichätialblätter. Ihre Größe nimmt bei den Weibchen rasch von den äußeren zu den inneren ab (Abb. 1). Anders ist es bei den Männchen; zwar werden die Perichätialblätter auch schmäler als die Laubblätter, aber außerdem verlängern sie sich stark, und die Enden sind gezähnt (Abb. 1). Ganz ähnlich gestaltet sind die ♂ Perichätialblätter bei anderen *Splachnum*arten (vgl. Schweizer 1923; Bornhagen 1930).

c) Gametangienstände. Die ♀ Stände werden zunächst schmal angelegt und enthalten anfangs nur etwa 3 Archegonien. Wenn keine Befruchtung stattfindet, verbreitert sich der Gametangienstand allerdings tellerförmig durch Bildung

immer neuer Archegonien; in alten Ständen wurden über 70 Archegonien gezählt. Der ♂ Gametangienstand wird von vornherein breit angelegt. Ein heranreifender Stand enthält 20—50 Antheridien. In älteren Ständen kann sich die Zahl durch Neuzuwachs auf über 80 erhöhen. Die ♂ Gametangienstände sind, wie bei anderen *Splachnum*arten (vgl. SCHWEIZER), durch den Besitz keulenförmiger Paraphysen ausgezeichnet, welche den rein ♀ Ständen fehlen. Das Auftreten dieser Keulenparaphysen in einem Archegonienstand ist also immer ein erstes sicheres Zeichen für den gemischtgeschlechtigen Charakter der Pflanze (vgl. ARENS 1939).

3. Morphologische Beobachtungen an den diploiden Sippen. Bei den ♂♂ und ♀♀ Sippen ist der Geschlechtsdimorphismus in gleicher Weise ausgeprägt wie bei den ♂ bzw. ♀; bei den (☿)♂ und (☿)♀ Pflanzen der Sporogonregeneratsippe tritt er

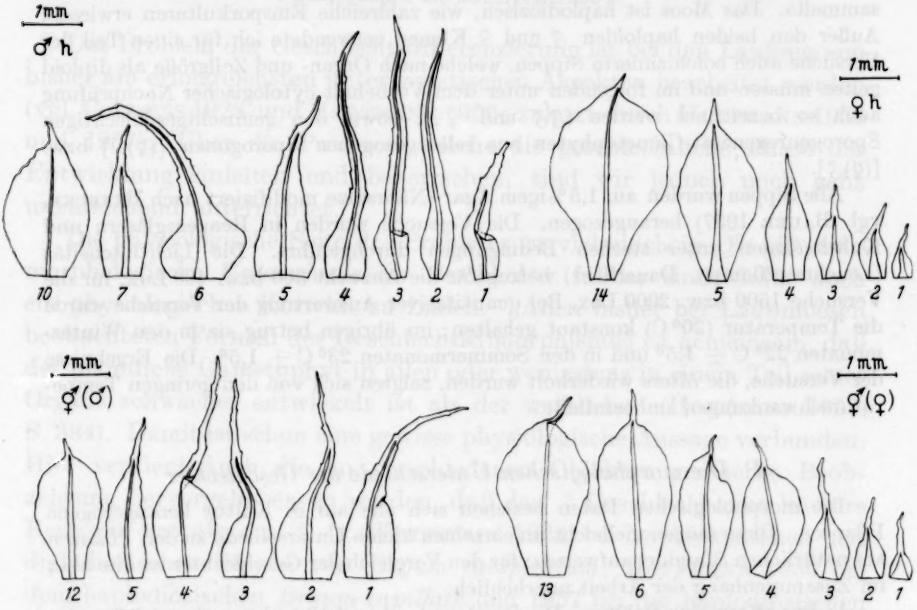

Abb. 1. Umriß aller Perichätialblätter; jeweils auf der linken Seite zum Vergleich ein Laubblatt. Die Bezifferung bedeutet die Blattreihenfolge vom jüngsten Blatt an gerechnet

etwas schwächer in Erscheinung; vor allem im ♂ Geschlecht macht sich die ♀ Tendenz geltend (Abb. 1). Die Perichätialblätter der (☿)♂ Pflanzen weichen oft nicht so stark von der Gestalt der vegetativen Blätter ab wie die der ♂ und ♂♂; ferner ist der Umriß der Laubblätter stark dem des anderen Geschlechtes genähert (Abb. 1). Bei den (☿)♀ dagegen ist kein männlicher Einfluß festzustellen, es sei denn, man deutet so die gegenüber den ♀ und ♀♀ Sippen etwas geringere Größe der Laubblätter.

II. Physiologische Unterschiede der Geschlechter

1. Das Wachstum des Protonemas. Bei anderen Moosen mit Geschlechtsdimorphismus wurde — soweit die Autoren überhaupt der Frage nachgingen — kein Unterschied in der Wachstumsweise der ♂ und ♀ Protonemen gefunden (vgl. DENING 1935, ERNST-SCHWARZENBACH 1939). Auch die in der vorliegenden Arbeit aufgefundenen Wachstums-

unterschiede sind im Vergleich zu den später zu betrachtenden physiologischen Differenzen gering und wären bei bloßem Betrachten der Kulturen wahrscheinlich nicht erkannt worden. Es ist also nicht ganz unwahrscheinlich, daß auch bei anderen Moosen mit sexuellem Dimorphismus unter definierten Bedingungen doch noch geringe Unterschiede gefunden werden könnten.

Neben der selbstverständlichen Konstanz der allgemeinen Kulturbedingungen erwies sich die *Vorkultur* des Versuchsmaterials als ausschlaggebend für den Ausfall der Versuche. Insbesondere ist auf den physiologischen Zustand, welchen man als „Alter" umschreibt, zu achten. Gleichmäßig reagierendes Material erhält man, wenn man den Neuzuwachs der Protonemaflocken jede Woche unter gleichen Kulturbedingungen (T = 20° C; 300 Lux) in kleinen, gleichmäßigen Portionen frisch überimpft. Für alle im folgenden beschriebenen Versuche wurden nur Protonemen verwendet, die mindestens 7 (meist erheblich mehr) derartige „Verjüngungs"-Übertragungen hinter sich hatten.

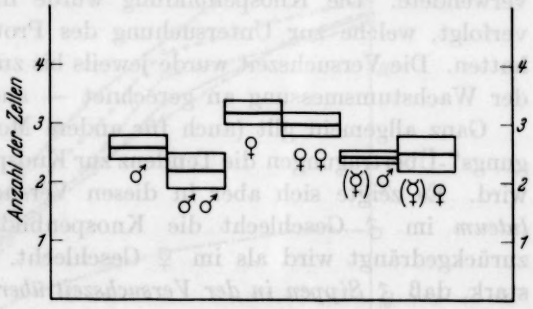

Abb. 2. Täglicher Zellzuwachs am Protonema; Mittelwert ± 3facher mittlerer Fehler

In Abb. 2 ist der durchschnittliche tägliche Zuwachs an Zellen über einen Zeitraum von 5 Tagen wiedergegeben.

Die Werte wurden aus zwei Versuchsserien im Abstand von einem halben Jahr gewonnen. In jeder Serie waren die einzelnen Sippen mit je 5 Petrischalen (⌀ 5 cm, mit planem Deckel) vertreten. In jede Schale kam zentral in eine kleine Vertiefung eine Protonemaflocke. Das Licht (2000 Lux) fiel etwas schräg ein; dadurch wuchsen die meisten Fäden auf der Agaroberfläche in Lichtrichtung, was für die Beobachtung günstig war. Nach einer Anwachszeit von 4 Tagen begann durch zeichnerisches Festhalten und Weiterverfolgen einzelner Fäden die Untersuchung. Pro Schale wurde täglich der Zuwachs von 7—8 Fäden untersucht, d. h., jeder Meßwert ist das Mittel aus 70—80 Einzelmessungen.

Zusammenfassend läßt sich feststellen: 1. Bei den reingeschlechtigen Sippen wachsen die haploiden etwas schneller als die diploiden; allerdings ist der Unterschied zwischen ♂ und ♂♂ nach der Bedingung $x_1 - x_2 = 3\sqrt{m_1^2 + m_2^2}$ wegen der stärkeren Streuung der ♂♂-Werte nicht als signifikant zu betrachten. 2. Die ♀ (bzw. ♀♀) Sippen wachsen schneller als die ♂ (bzw. ♂♂) (Unterschiede gesichert). 3. Die beiden (☿)♀ und (☿)♂ Sippen wachsen gleich, aber etwas schwächer als die ♀♀ (Unterschied signifikant), nähern sich also mehr den ♂ und ♂♂ Sippen.

2. Die Knospenbildung am Protonema. Wenn man *Sporen* auf Nährboden aussät, dann entwickeln sich je nach ihrer Reife in 18—25 Tagen am Protonema Knospen. Man kann die jeweils gleichaltrigen Knospen herauspräparieren und getrennt aufziehen, stets bekommt man etwa die gleiche Zahl Männchen und Weibchen. Aus 3 Kapseln wurden in dieser Weise am 21. Tage nach der Aussaat 91 ♂ und 85 ♀, am 25. Tage 66 ♂ und 69 ♀ Pflanzen isoliert. Die Bereitschaft, Knospen zu bilden, ist also in diesem Falle im ♂ und ♀ Protonema gleich groß.

Dieses Bild änderte sich aber grundlegend, wenn man als Ausgangsmaterial für die Versuche das oben beschriebene „verjüngte" Protonema verwendete. Die Knospenbildung wurde in den gleichen Schälchen verfolgt, welche zur Untersuchung des Protonemawachstums gedient hatten. Die Versuchszeit wurde jeweils bis zum 30. Tage — von Beginn der Wachstumsmessung an gerechnet — ausgedehnt.

Ganz allgemein gilt (auch für andere Moose), daß durch „Verjüngungs"-Übertragungen die Tendenz zur Knospenbildung zurückgedrängt wird. Es zeigte sich aber in diesen Versuchen, daß bei *Splachnum luteum* im ♂ Geschlecht die Knospenbildungstendenz viel stärker zurückgedrängt wird als im ♀ Geschlecht. Der Unterschied war so stark, daß ♂ *Sippen in der Versuchszeit überhaupt noch keine Knospen* gebildet hatten. Bei den ♀ und ♀♀ Sippen setzte die Knospenbildung gleichzeitig am 12. Tage ein, bei den (☿)♀ erst 5 Tage später. Die ♀ und ♀♀ Sippen erzeugten bis zum 19. Tage etwa gleich viel Knospen, vom 20. Tage an eilte aber die haploide Sippe der diploiden weit voraus. Nach 30 Tagen hatte die ♀ Sippe 417, die ♀♀ Sippe 279 und die (☿)♀ Sippe 169 Knospen produziert.

Die Fähigkeit, die für die Knospenbildung nötigen Faktoren (ob es sich um einen Stoffkomplex oder einen einzelnen Stoff handelt, müssen spätere Untersuchungen klären) zu bilden, ist aber im ♂ Geschlecht nicht völlig verlorengegangen, obwohl „verjüngte" ♂ Protonemaflocken meist auch dann keine Knospen mehr bilden, wenn man sie *ohne* weitere Übertragungen monatelang im gleichen Kulturröhrchen weiterkultiviert. Bringt man ♂ Protonemaflocken aus alten, fast austrocknenden Röhrchen auf frischen Nährboden, dann erhält man meist innerhalb 14 Tagen Knospen, deren Zahl allerdings von Versuch zu Versuch sehr stark schwankt. In alten ♂ Protonemafäden kann also die stoffliche Voraussetzung zur Knospenbildung durchaus vorhanden sein, ohne daß es tatsächlich dazu kommt. Die Ursache ist wahrscheinlich einer allmählichen Selbsthemmung der wachsenden Flocke zuzuschreiben. Die physiologischen Bedingungen der Knospenbildung stellen sich so zögernd ein, daß ihr Wirksamwerden durch die überhandnehmenden Hemmfaktoren unterbunden wird. Die gleichen Hemmfaktoren spielen auch im ♀ Geschlecht eine Rolle, nur sind hier die physiologischen

Voraussetzungen zur Knospenbildung bereits erfüllt, bevor die Hemmfaktoren das Übergewicht bekommen.

3. Das Wachstum der beblätterten Gametophyten. *a) Die vegetative Phase.* Auch mit Sprossen kann man „Verjüngungs"-Übertragungen durchführen; dadurch wird die Tendenz zur Bildung von Geschlechtsorganen zurückgedrängt: Die Stämmchen werden (nach Entfernung des Vegetationspunktes) zur Bildung von Seitensprossen auf frischen

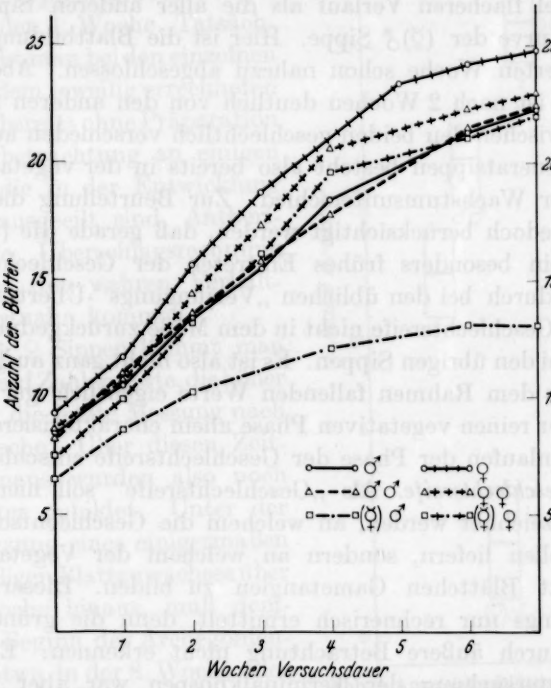

Abb. 3. Verlauf des Blattzuwachses an den Seitensprossen „verjüngter" Pflanzen. Der Übersichtlichkeit wegen sind die 3fachen mittleren Fehler nicht eingezeichnet

Nährboden gebracht. Nach einer Woche werden die neugebildeten Seitensprosse abgeschnitten und wieder in der gleichen Weise ausgelegt. — Die Zahl dieser Verzweigungs„-Generationen" betrug bei (☿)♀ 10 und bei den übrigen Sippen 17. Zur Untersuchung gelangten pro Sippe 50 Sprosse. Sie wurden — jetzt ohne Entfernung des Vegetationspunktes — mit ihrer Basis senkrecht in den Agar gesteckt. Bei Anzucht und Versuch betrug in diesem Fall die Lichtstärke 400 Lux; denn zur Zählung der Blätter war ein gewisser Etiolementeffekt erwünscht.

Nach fünf Tagen Anwachszeit wurden die Blätter an den Sprossen erstmals und in der Folge alle 7 Tage gezählt. Dabei blieben diejenigen Blätter unberücksichtigt, die den Vegetationspunkt noch fest umschlossen. Der Zuwachs wurde 7 Wochen lang protokolliert (Abb. 3).

Die wöchentliche Zählung ergibt für alle Sippen — mit Ausnahme der (☿)♂ Sippe — eine Schar ziemlich gleichlaufender Kurven. *Während der vegetativen Phase des Wachstums* läßt sich demnach *kein wesentlicher Unterschied im Sproßwachstum* zwischen den haploiden und diploiden reinen ♂ und ♀ erkennen. Nach der 7. Woche treten Unterschiede auf, die mit dem zeitlich verschiedenen Einsetzen der Geschlechtsreife zusammenhängen.

Einen viel flacheren Verlauf als die aller anderen Sippen nimmt jedoch die Kurve der (☿)♂ Sippe. Hier ist die Blattbildung nach dem Ende der vierten Woche schon nahezu abgeschlossen. Aber auch die Zuwachsrate ist nach 2 Wochen deutlich von den anderen Sippen verschieden. Zwischen den beiden geschlechtlich verschieden ausgeprägten Sporogonregeneratsippen besteht also bereits in der vegetativen Phase ein deutlicher Wachstumsunterschied. Zur Beurteilung dieses Ergebnisses muß jedoch berücksichtigt werden, daß gerade die (☿)♂ Sippen sich durch ein besonders frühes Eintreten der Geschlechtsreife auszeichnen, wodurch bei den üblichen „Verjüngungs"-Übertragungen die Tendenz zur Geschlechtsreife nicht in dem Maße zurückgedrängt werden konnte wie bei den übrigen Sippen. Es ist also nicht ganz ausgeschlossen, daß diese aus dem Rahmen fallenden Werte eigentlich gar nicht das Wachstum der reinen vegetativen Phase allein charakterisieren, sondern bereits das Anlaufen der Phase der Geschlechtsreife einschließen.

b) Die Geschlechtsreife. Als „Geschlechtsreife" soll hier nicht der Zeitpunkt bezeichnet werden, an welchem die Geschlechtsorgane reife Geschlechtszellen liefern, sondern an welchem der Vegetationspunkt anfängt, statt Blättchen Gametangien zu bilden. Dieser Zeitpunkt wurde allerdings nur rechnerisch ermittelt, denn die grünen Stadien lassen sich durch äußere Betrachtung nicht erkennen. Eine mikroskopische Untersuchung der Terminalknospen war aber wegen der sterilen Versuchsbedingungen nicht möglich. Die Unterschiede der Geschlechter waren auch so deutlich genug.

Läßt man den Blattzähl-Versuch bis zur Ausbildung der Geschlechtsorgane weiterlaufen, dann ergibt die Endzählung der Blätter (nach 11 Wochen) die Werte der Abb. 4 (unschraffiert). In ihnen sind auch die Blattzahlen aus 7 Tagen Vorkultur (in der sich die für die Versuche verwendeten Seitensprosse bildeten) und 5 Tagen Anwachszeit vor dem eigentlichen Versuchsbeginn enthalten. Gemessen an der Produktion von Laubblättern dauert also die vegetative Phase aller ♀ Sippen länger als die der ♂.

Da das Wachstum ziemlich kontinuierlich verlief, kann man den Zeitpunkt des Beginnes der Geschlechtsorganbildung annähernd errechnen. Man zieht von der Gesamtblattzahl die für die Sippe charakteristische Zahl der Perichätialblätter ab und sucht den erhaltenen

Wert in der entsprechenden Kurve der Abb. 3 auf. So kommt man zu dem Zeitpunkt, an dem die Perichätialblätter zwar alle angelegt, aber noch nicht ausgebreitet waren (gezählt wurden ja nur die ausgebreiteten Blätter). Zu dieser Zeit müssen auch die ersten Gametangien angelegt worden sein. Sie liegt für die ♂ Sippe am Ende der 3. Woche, für die ♂♂ Sippe am Ende der 4. Woche; für die (☿)♂ Sippe ergibt sich sogar das Ende der 1. Woche. Tatsächlich entdeckt man bei den einzelnen Sippen zu dem jeweilig errechneten Zeitpunkt bereits ohne Präparation bei Lupenbetrachtung an einigen Pflanzen, die in der Entwicklung etwas vorausgeeilt sind, Antheridien. Die Überschlagsrechnung dürfte also den wahren Verhältnissen sehr nahe kommen.

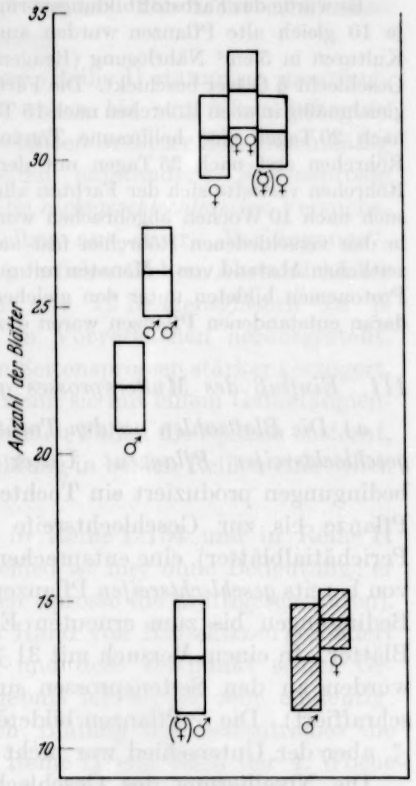

Abb. 4. Anzahl der Blätter an Seitensprossen, einschließlich der Perichätialblätter; unschraffiert: Mutterspross nicht geschlechtsreif („verjüngt"); schraffiert: Mutterspross geschlechtsreif

Bei den ♀ Sippen kommt man durchweg auf Zahlenwerte, die höher liegen, als die letzte Messung nach der 7. Woche. Über diesen Zeitpunkt hinaus wurden also noch Laubblätter gebildet. Unter der Voraussetzung eines einigermaßen gleichmäßigen Blattzuwachses über die 7. Woche hinaus, muß demnach der Beginn der Archegonienbildung etwa in der 8. Woche oder an deren Ende angesetzt werden.

Wenn man zu diesen errechneten Zeiten noch die 7 Tage Vorkultur und 5 Tage Anwachszeit hinzuzählt (die in dem Kurvenbild der Abb. 3 nicht enthalten sind), dann erhält man etwa das wahre Sproßalter zur Zeit der Geschlechtsreife.

4. Farbstoffbildung in Flüssigkeitskultur. Die folgenden Untersuchungen haben nur den Charakter von Vorversuchen. Die Ergebnisse sind aber doch so auffällig, daß sie im Zusammenhang dieser Arbeit Erwähnung verdienen.

Splachnum luteum bildet sowohl in Rhizoiden als auch älteren Sproßteilen Farbstoffe, welche in den Membranen abgelagert werden. Ihr gelbbrauner Farbton unterscheidet sich etwas von ähnlichen Farbstoffen anderer Moose; wahrscheinlich handelt es sich um gerbstoffähnliche Verbindungen (vgl. Czapek 1899, Herzfelder 1921). Durch Zuckerzugabe zum Nährmedium und Ersetzen des K_2HPO_4

des Nährbodens durch K_3PO_4 (0,005 mol) kann die Bildung stark intensiviert werden. Verwendet man flüssiges Nährmedium, dann tritt der Farbstoffüberschuß, welcher in den Membranen keinen Platz hat, in die Lösung über. Dadurch läßt sich die Farbstoffmenge kolorimetrisch bestimmen und Unterschiede in der Farbstoffbildung erkennen.

Es wurde das Farbstoffbildungsvermögen haploider ♂ und ♀ Sprosse verglichen: je 10 gleich alte Pflanzen wurden aus den oben beschriebenen „Verjüngungs"-Kulturen in 5 cm³ Nährlösung (Reagensgläser) übertragen. Insgesamt wurden je Geschlecht 6 Gläser beschickt. Die Färbung der Lösung begann bei den Weibchen gleichmäßig in allen Röhrchen nach 15 Tagen; bei den Männchen trat in 2 Röhrchen nach 20 Tagen eine hellbraune Tönung der Lösung ein, während die übrigen Röhrchen erst nach 25 Tagen mit der Farbstoffabgabe begannen. — In allen Röhrchen vertiefte sich der Farbton allmählich zu Dunkelbraun, und als der Versuch nach 10 Wochen abgebrochen wurde, hatten sich die Farbstoffunterschiede in den verschiedenen Röhrchen fast ausgeglichen. Der Versuch wurde in einem zeitlichen Abstand von 4 Monaten mit qualitativ dem gleichen Ergebnis wiederholt. Protonemen bildeten unter den gleichen Bedingungen keinen Farbstoff; erst die daran entstandenen Pflanzen waren dazu befähigt.

III. Einfluß des Muttersprosses auf die Geschlechtsreife der Seitenäste

a) Die Blattzahlen an den Tochtersprossen geschlechtsreifer und nichtgeschlechtsreifer Pflanzen. Unter den oben angegebenen Versuchsbedingungen produziert ein Tochtersproß einer verjüngten haploiden ♂ Pflanze bis zur Geschlechtsreife etwa 22—23 Blätter (einschließlich Perichätialblätter), eine entsprechende ♀ Pflanze etwa 31. Tochtersprosse von bereits *geschlechtsreifen* Pflanzen bilden dagegen unter sonst gleichen Bedingungen bis zum erneuten Eintritt der Geschlechtsreife weniger Blätter. In einem Versuch mit 31 ♂ und 46 ♀ geschlechtsreifen Sprossen wurden an den Seitensprossen nur 12—16 Blätter angelegt (Abb. 4, schraffiert). Die ♀ Pflanzen bildeten im allgemeinen etwas mehr als die ♂, aber der Unterschied war nicht signifikant.

Die Nivellierung des Geschlechtsunterschiedes in diesem Versuch dürfte mehr zufällig zustande gekommen sein, und es soll ihm hier weiter keine Bedeutung beigemessen werden; denn es ist nicht so ohne weiteres möglich, den „sexuellen Reifungsgrad" der ♂ mit dem der ♀ Mutterpflanzen zu vergleichen. Sicherlich ist aber der physiologische Startzustand der Mutterpflanzen von großem Einfluß auf die Reifungszeit der Tochtersprosse.

b) Die Zeit bis zum Eintritt der Geschlechtsreife bei Tochtersprossen geschlechtsreifer und nichtgeschlechtsreifer Pflanzen. Während es in der ersten Versuchsserie nur um die Zahl der Blätter bis zur Bildung von Gametangien ging, wurde in einer zweiten Serie die Entwicklungszeit der Tochtersprosse bis zu einem bestimmten frühen Zeitpunkt der Geschlechtsreife ermittelt. Da wegen der sterilen Kulturbedingungen nur eine Beurteilung von außen mit dem Präpariermikroskop in Frage kam, mußte bei der Feststellung der Geschlechtsreife ein kleiner Fehler

in Kauf genommen werden. Als Kriterium wurde in dieser Versuchsserie der Beginn der charakteristischen knospigen Anschwellung des Vegetationspunktes verwendet, bei der sich schon die ersten Perichätialblätter unterscheiden ließen. Da der Fehler in beiden Reihen der Serie der gleiche war, darf er vernachlässigt werden. Die Lichtverhältnisse waren die gleichen wie im ersten Versuch.

Die *geschlechtsreifen* Versuchssprosse (Reihe I) stammten ursprünglich aus „Verjüngungs"-Kulturen und waren bis zum Versuchsbeginn 6 Wochen nicht übertragen worden; sie hatten in dieser Zeit gleichmäßig Geschlechtsorgane gebildet. Inzwischen entstandene Seitensprosse wurden zu Versuchsbeginn entfernt. Die *nichtgeschlechtsreifen* Versuchssprosse (Reihe II) stammten unmittelbar aus einer „Verjüngungs"-Kultur und hatten 31 Übertragungen in wöchentlichem Abstand hinter sich. Beide Versuchsreihen wurden mit 12 Reagensgläsern zu je 5 Sprossen angesetzt. Es hatte sich in Vorversuchen herausgestellt, daß die Sproßspitze das Austreiben von Seitensprossen stärker verzögert, wenn sie vegetativ ausgebildet ist, als wenn sie mit einem Gametangienstand abschließt. Deshalb wurden in beiden Fällen die Spitzen entfernt, so daß der Beginn der Seitenknospenbildung in beiden Reihen einheitlich in der ersten Versuchswoche lag.

Im Laufe des Versuches wurden in Reihe I 154 und in Reihe II 84 Seitensprosse angelegt (der Unterschied ist hier ohne Bedeutung; er kommt daher, weil die geschlechtsreifen Sprosse die kräftigeren waren). Jeder auftretende Seitenast wurde an Hand von Hilfsskizzen gesondert nach dem Zeitpunkt seiner Bildung und dem Zeitpunkt seiner Geschlechtsreife protokolliert. Das Ergebnis ist wieder sehr eindeutig: In Reihe I trat etwa 2 Wochen nach Bildung des Seitentriebes die Geschlechtsreife ein, während sie in Reihe II erst nach der 4. Woche einsetzte.

Ferner läßt die Art der Versuchsanstellung erkennen, daß die Reifebeschleunigung des Seitenastes nicht an die Anwesenheit des Gametangienstandes am Muttersproß gebunden ist, sondern auf Faktoren zurückgeht, welche sich vor der Dekapitierung im Sproß angereichert haben.

c) Die Geschlechtsreife der Tochtersprosse im Dunkeln. Bei Schwachlicht (etwa 50 Lux) können die Sprosse zwar bis zu mehreren Dezimeter Länge heranwachsen, bilden aber mit oder ohne Glucose (1,8%) keine Geschlechtsorgane. Auch in völliger Dunkelheit können die Sprosse stark etioliert wachsen, ohne indessen zur Geschlechtsreife zu kommen.

Läßt man aber Sprosse (♂ oder ♀), welche im Licht geschlechtsreif geworden sind, im Dunkeln Seitenknospen bilden, dann werden diese oft nach 2—3 Wochen geschlechtsreif. Es werden aber keine typischen

Perichätialblätter gebildet, sondern die Gametangien sitzen nackt an der Spitze.

IV. Die phänotypische Geschlechtsbestimmung der Sporogonregeneratsippe

Das Sporogonregenerat ist diploautözisch (vgl. HARTMANN 1956, S. 19). Bei der Geschlechtsreife werden die Pflänzchen zunächst ausnahmslos ♀; sie sind also protogyn.

1. Die reinen Weibchen. Die ♀ Pflanzen wurden in der Folgezeit auf zweierlei Weise vermehrt: 1. wurden sie zur Bildung von *Protonema* veranlaßt, welches mittels „Verjüngungs"-Kulturen vermehrt wurde; 2. wurden die Pflanzen zwecks Bildung neuer *Seitensprosse* auf neues Substrat übertragen.

Bei der Vermehrung auf der Protonemastufe wurden insgesamt 50 „Verjüngungs"-Übertragungen durchgeführt. In sämtlichen vegetativen „Generationen" wurden die aus dem nichtübertragenen Protonemaanteil entstandenen Pflanzen zur Geschlechtsreife gebracht. Sie waren ausnahmslos (483 Pflanzen) ♀.

Bei der Vermehrung über Blattachselknospen wurden teils unreife (63 Übertragungen) oder schon geschlechtsreife (32 Übertragungen) Sprosse verwendet. Stets blieb auch hier das Geschlecht konstant ♀. Man darf also wohl angesichts der großen Zahl der untersuchten Pflanzen sagen, daß die primäre ♀ Tendenz beliebig lange rein erhalten werden kann, wenn man die Übertragung auf frisches Substrat früh genug durchführt.

2. Die Zwitter. Bei Übertragung auf frisches Substrat hört, etwa bis zum Eintritt der Geschlechtsreife im Seitensproß, die Produktion neuer Archegonien auf.

Beläßt man sie aber ungestört auf dem alten Substrat, dann werden laufend neue angelegt, so daß sich der Gametangienstand stark schüsselartig verbreitert. Die alten Archegonien werden dabei durch Membranfärbung schwarzbraun. Schließlich treten zwischen den Archegonien lange, mehrzellige Paraphysen von keulenartiger Gestalt auf, wie sie für das ♂ Geschlecht charakteristisch sind. Kurze Zeit darauf findet man Mittelbildungen zwischen Archegonien und Antheridien, wie sie schon von anderen Autoren beschrieben wurden (vgl. HOFFMANN 1956; dort ältere Literatur). Anfangs überwiegt der ♀ Anteil in den Zwitterorganen, später der ♂, aber stets ist der obere Teil dieses Gebildes archegonartig ausgebildet.

Je älter die Pflänzchen werden, desto mehr „erschöpft" sich die ♀ Tendenz bzw. erstarkt die ♂ Tendenz, und es werden nur noch reine Antheridien gebildet, die auch bewegliche Spermatozoiden enthalten.

Schließlich kann in diesen zwittrig gewordenen Gametangienständen die Zahl der Antheridien die der Archegonien weit übertreffen.

In den Zwitterständen treten regelmäßig gestielte Gametangien auf, über die in anderem Zusammenhang berichtet wird (BAUER 1959).

Auch die zwittrigen Pflanzen wurden zur Bildung von Seitenknospen auf frisches Substrat übertragen. Die geschlechtliche Qualität der Seitensprosse ist dabei uneinheitlich und von verschiedenen Faktoren abhängig, insbesondere von der Stärke der ♂ Tendenz. Dies sei an zwei Beispielen erläutert:

a) Die ♂ Tendenz ist noch wenig ausgebildet. Sie ist etwa nur durch Keulenparaphysen erkennbar, oder aber die Gametangien zeigen Mittelbildungen. In diesem Falle sind die Folgesprosse wieder reine Weibchen. Bei regelmäßigen Übertragungen tritt die ♂ Tendenz überhaupt nicht mehr in Erscheinung. Wartet man, bis die an den schwachen Zwittern gebildeten Tochtersprosse erneut zu Zwittern werden, dann ist sehr häufig die Zeit bis zum Wiederzwittrigwerden abgekürzt: Während ein ♀ Gametangienstand einer Pflanze, die sich direkt aus einer „Verjüngungs"-Kultur ableitet, in etwa 8—12 Wochen zwittrig wird, ist dies hier schon in etwa 4—6 Wochen der Fall (2000 Lux). Die einmal aufgetretene ♂ Tendenz zeigt also bei vegetativer Vermehrung eine gewisse Nachwirkung. Dies wird im zweiten Beispiel noch deutlicher.

b) Die ♂ Tendenz überwiegt bereits die ♀. Oft sind auch jetzt noch die Seitenknospen auf frischem Substrat wieder rein ♀, aber vielfach ist die Nachwirkung der ♂ Tendenz so stark ausgeprägt, daß sich unmittelbar zwischen den ersten Archegonien die ersten Keulenparaphysen und wenig später die ersten Antheridien befinden (2000 Lux). Es entwickelt sich also praktisch gleich wieder ein Zwitter. Man kann demnach auch die zwittrige Form beliebig lang als solche weiterziehen, wenn man die Pflänzchen genügend lange reifen läßt.

Trotzdem ist aber der zwittrige Zustand labil. Läßt man die Seitenknospen bei schwacher Belichtung entstehen (etwa 300 Lux), dann werden die vegetativen Nachkommen auch der starken Zwitter immer ♀.

3. Die reinen Männchen. *a) Die Umstände ihres Auftretens.* Wir betrachten zuerst ihre Entstehung in rein weiblichen [(☿)♀] Ausgangskulturen. Früh angelegte Knospen am Sekundärprotonema der Versuchssprosse werden durchweg zu Weibchen; spät angelegte Knospen bleiben häufig vor Bildung der Gametangienstände in ihrer Entwicklung stecken. Einige werden aber sogar noch geschlechtsreif, wenn die ursprünglich eingesetzten Sprosse in den zwittrigen Zustand übergehen. Diese Spätlinge sind dann meist *rein ausgeprägte* ♂ Pflanzen.

In ähnlicher Weise treten auch in alternden primären Protonemakulturen etwa zu dem Zeitpunkt, wenn die darin gebildeten weiblichen

Pflanzen zwittrigen Charakter annehmen, gelegentlich reine Männchen auf, die ebenfalls auf spät angelegte Knospen zurückgehen.

Zuweilen entstehen dabei auch *Zwitter*, die sich aber morphologisch von den oben beschriebenen unterscheiden: Jene hatten Perichätialblätter vom ♀ Typus, da bei ihnen die Entwicklung immer mit einem Überwiegen der ♀ Tendenz begann. Der eben erwähnte 2. Typus besitzt jedoch ♂ Perichätialblätter und unterscheidet sich von den reinen ♂ nur durch den Besitz einzelner Archegonien zwischen zahlreichen Antheridien. Selten wurden in ihnen auch Mischbildungen jenes Typus gefunden, den HOFFMANN in ihrer Abb. 14 wiedergibt. Hier ist eine primäre ♂ Gametangienanlage sekundär (in ihrem unteren Teil) in Richtung eines Archegoniums modifiziert worden.

Sind die verwendeten Ausgangssprosse bereits *zwittrig*, dann finden wir auch oft unter den am Regenerationsprotonema *frühzeitig* angelegten Pflanzen reine Männchen. Der Prozentsatz der Männchen am Regenerationsprotonema der Zwitter (bis zu 30%) schwankte stark und ist offenbar abhängig vom Stärkeverhältnis der ♂ und ♀ Tendenz im Ausgangssproß.

b) Das Vorkommen konstanter Männchen. Die reinen Männchen wurden isoliert und teils als beblätterte Pflanzen, teils in der Protonemaform vermehrt. Bei beiden Vermehrungsarten erwiesen sie sich als uneinheitlich. Ein Teil schlug wieder zum ♀ Geschlecht zurück. Die ♀ Tendenz erwies sich also bei guten vegetativen Wachstumsbedingungen in Konkurrenz mit der ♂ Tendenz stets als die stärkere. — Ein Teil behielt aber sein ♂ Geschlecht bei, auch wenn über viele vegetative „Generationen" der Eintritt der Geschlechtsreife verhindert wurde. Insgesamt wurden 114 neu aufgetretene Pflanzen isoliert, die wenigstens über zwei — meist erheblich mehr — vegetative Folgegenerationen in ihrem Geschlecht konstant geblieben sind, während es für inkonstante Männchen charakteristisch ist (197 geprüfte Pflanzen), daß sie bereits in der ersten vegetativen Folgegeneration die ♀ Tendenz wieder zum Vorschein bringen. Drei der konstanten ♂ Klone haben ihr Geschlecht bis zur 20. Generation nicht aufgegeben; dann wurde der Versuch nur noch mit einem Klon fortgesetzt, der auch bis in die 49. „Generation" keine Änderung des Geschlechtes gezeigt hat. Behandlung mit Chemikalien wie Azenaphthen, Chloralhydrat, Colchicin, IES, Kinetin oder Änderung der Nährstoffzusammensetzung einschließlich der Pufferung konnte keine Umstimmung veranlassen, umgekehrt förderte sie auch nicht die ♂ Tendenz gegenüber der ♀. Durch schwache Plasmolyse mit Mannit konnten kugelige Einzelzellen erhalten werden, die sich eine Zeitlang als unpolare Zellhaufen vermehrten, ähnlich wie es D. v. WETTSTEIN (1953) unter anderen Bedingungen bei *Funaria* erzielte. Nach deren Übertragung auf frisches Substrat stellte sich die normale Wuchsform wieder

ein, und in den neu gebildeten Pflanzen kam stets das ursprüngliche Geschlecht wieder zum Vorschein. Ebenso war die Kultur im Schwachlicht, in verschiedenfarbigem Licht oder im Dunkeln ohne Einfluß auf die Konstanz der Männchen.

Von Bedeutung für die Deutung des Konstantwertes ist die Tatsache, daß neuaufgetretene reine Männchen, welche bereits zur Zeit der Geschlechtsreife isoliert wurden, sich zu 50—70% als instabil erwiesen, daß aber Pflanzen mit alten Antheridienständen nach Übertragung zu 70—80% konstant blieben. Dem Vorgang liegt also keine Mutation im genetischen Sinne zugrunde, sondern er erfolgt über eine *allmähliche Veränderung des Stärkeverhältnisses der ♂ und ♀ Tendenz.* Dieser Prozeß läuft auch in den bereits geschlechtsreifen Sprossen weiter.

Diskussion

I. Die Beeinflussung der vegetativen Phase durch geschlechtsabhängige Faktoren

Bereits im *Protonemastadium* — also schon lange vor dem Einsetzen der eigentlichen geschlechtlichen Differenzierungsprozesse — macht sich ein leichter Unterschied im Wachstum der ♂ und ♀ Gametophyten bemerkbar. Es muß allerdings darauf hingewiesen werden, daß geschlechts*abhängige* Faktoren nicht notwendig auch geschlechts*determinierend* sind. Die Abhängigkeit kann sich durch Koppelung im gleichen Chromosom ergeben. Solange wir nichts über die spezifischen Wirkungen der fraglichen Gene wissen, können wir sie auch noch nicht auseinanderhalten. Wir müssen also noch offenhalten, ob in einer so frühen Entwicklungsphase wirklich schon vorbereitende Reaktionsschritte der eigentlichen sexuellen Differenzierung sichtbar werden, oder ob nicht vielleicht Gene im Spiel sind, welche mit den geschlechtlichen Realisatoren gekoppelt sind, aber allgemeinere Wachstumsprozesse kontrollieren. Die zweite Möglichkeit erscheint mir vorläufig als die wahrscheinlichere. Denn im ersteren Fall müßten sich die Unterschiede beim Wachstum der beblätterten Pflanze verstärken. Die Unterschiede in der *Blattzuwachsrate* sind aber mindestens in der vegetativen Phase so gering, daß sie unter den Versuchsbedingungen nicht erfaßt werden konnten. Die Blätter werden im ♀ Geschlecht etwas größer als im ♂. Die stärkere vegetative Entfaltung der Weibchen (schnelleres Protonemawachstum — größere Blattfläche — längere Reifezeit) geht vielleicht auf einen einheitlichen physiologischen Faktor zurück.

Mit diesen kräftigeren vegetativen Tendenzen der ♀ Pflanzen hängt wahrscheinlich auch irgendwie der Befund zusammen, daß sich bei den vorbereitenden Prozessen der *Knospenbildung* erhebliche Unterschiede herausbilden können: Die Bereitschaft, Knospen zu produzieren, welche

im Sporenprotonema und „nichtverjüngten" Protonema beider Geschlechter keine wesentlichen Unterschiede aufweist, wird durch eine Reihe von „Verjüngungs"-Übertragungen im ♂ Geschlecht erheblich stärker zurückgedrängt als im ♀. Man kann annehmen, daß während des raschen Wachstums der „Verjüngungs"-Phase irgendwelche *stofflichen Komponenten der Knospenbildung eine Verdünnung erfahren und daß ihre Neubildung im ♀ Geschlecht viel rascher vor sich geht als im ♂*. Ob dieser Geschlechtsunterschied eine Eigenart gewisser Splachnaceen ist oder allgemeiner verbreitet ist, bleibt zu untersuchen.

Bei der Ausgestaltung der Perichätialblätter, die sich deutlich von den Laubblättern unterscheiden und starke Geschlechtsverschiedenheiten aufweisen, kann man mit größerem Recht von einer Beeinflussung der vegetativen Region durch den sexuellen Differenzierungsstoffwechsel im engeren Sinne sprechen.

II. Zur Physiologie der sexuellen Phase

1. Eintritt der Geschlechtsreife. *a) Unterschiede der Geschlechter. ♂ Pflanzen sind stets früher geschlechtsreif als* ♀ gleicher Valenzstufe. Darin gleicht also *Splachnum luteum* anderen darauf untersuchten haplodiözischen Moosen, z. B. *Bryum caespititium* (v. WETTSTEIN 1924), *Barbula unguiculata* und *Bryum capillare* (HOFFMANN 1956, 1957).

Überraschend ist daher, daß die Sporogonregeneratsippe ausgeprägt *protogyn* ist, überraschend auch deshalb, weil die sich von ihr ableitenden (☿)♂ Pflanzen *wesentlich* früher geschlechtsreif werden als die (☿)♀ Pflanzen.

Wie das Überwiegen der ♀ Tendenz zustande kommt, kann man noch nicht sagen. Vielleicht besteht aber eine Parallele zu den geschlechtsbedingten Unterschieden der Knospenbildungsbereitschaft: Auch hier könnten wichtige Reaktionsschritte der Geschlechtsdetermination (vor allem bei „Verjüngung") im ♂ Geschlecht wesentlich langsamer als im ♀ Geschlecht verlaufen. Doch sind die vielen Denkmöglichkeiten so lange ohne Wert, wie sich kein experimenteller Weg zu ihrer Prüfung bietet.

Über das Stärkeverhältnis der ♂ und ♀ Tendenzen bei den Sporogonregeneratsippen der verschiedenen Laubmoose liegen noch keine vergleichenden Untersuchungen vor. Mindestens bei den Splachnaceen scheint aber das ♀ Geschlecht häufig die stärkere Durchschlagskraft zu besitzen. So ist nach eigenen Untersuchungen auch das Sporogonregenerat von *Splachnum rubrum* zunächst (☿)♀ und bildet erst in alten Gametangienständen Antheridien bzw. Mischorgane aus. Ferner bringt *Splachnum vasculosum* nach ARENS (1939) nur das ♀ Geschlecht hervor; vielleicht würde sich in alten Gametangienständen ebenfalls ein zwittriger Charakter einstellen. Wahrscheinlich ist hier auch *Splachnum sphae-*

ricum (SCHWEIZER; BORNHAGEN) anzuschließen, dessen eigentümliche Geschlechterverteilung durch Vergleich mit den vorliegenden Befunden verständlich wird. Schließlich zeigt nach HOFFMANN auch bei *Barbula unguiculata* die ♀ Tendenz eine stärkere Durchschlagskraft; über das Zustandekommen ihrer konstanten ♂ Klone hat sie keine Untersuchungen angestellt, es könnten aber prinzipiell ganz ähnliche Voraussetzungen gegeben gewesen sein wie beim Auftreten der konstanten *Splachnum luteum*-Männchen.

Als anderer Extremfall wurde auch eine ausschließlich und konstant ♂ Ausprägung der Sporogonregenerate beschrieben (MOUTSCHEN 1954) bei *Eurhynchium stokesii*.

b) Beschleunigung der Geschlechtsreife durch übertragbare Faktoren. Im Zuge der Umwandlung der Sproßspitze zu einem Gametangienstand reichern sich auch im Sproß Stoffe an, welche die Geschlechtsreife fördern. Entweder wandern sie aus der sich umdifferenzierenden Spitze in den Sproß, oder sie werden umgekehrt im Sproß gebildet und an den Vegetationspunkt transportiert, wo sie bei der sexuellen Differenzierung mitwirken. Zwischen beiden Möglichkeiten kann noch nicht entschieden werden. Auf alle Fälle werden sie aber vom Sproß aus in die auswachsende Seitenknospe übertragen und führen zu einem früheren Eintritt der Geschlechtsreife. Die Anreicherung von sexuellen Determinationsstoffen im Moosstämmchen wurde bereits früher (HOFFMANN 1957) diskutiert, um das Auftreten von Gametangien an der Spitze von Perichätialblättchen zu deuten.

2. Veränderung des Geschlechtsverhältnisses bei der phänotypischen Geschlechtsbestimmung der Sporogonregeneratsippe. Das primäre Geschlecht der Sporogonregeneratsippe läßt sich beliebig lange erhalten, wenn man für regelmäßige „Verjüngung" sorgt oder (auch ohne Verjüngung) bei *schwachen* Lichtintensitäten kultiviert. Erst bei *höheren* Lichtstärken vermag sich die ♂ gegen die ♀ Tendenz durchzusetzen — aber auch nur dann, wenn eine verhältnismäßig lange „Alterungs"-Periode der Sprosse hinzukommt.

Prüft man jedoch die den (☿)♀ aller Wahrscheinlichkeit nach genetisch gleichen (☿)♂ Pflanzen bezüglich ihrer Lichtansprüche, dann stellt man fest, daß sie mindestens bei denselben niedrigen Lichtintensitäten Gametangien bilden wie die (☿)♀ Pflanzen (quantitative Vergleiche stehen noch aus), also bei Lichtstärken, bei denen in (☿)♀ Pflanzen auch in alten Kulturen nie eine Andeutung des ♂ Geschlechtes festgestellt werden kann. Bei *Funaria hygrometrica* hat stets das ♀ Geschlecht das höhere Lichtbedürfnis für seine Reife (SCHELLENBERG 1919; v. WETTSTEIN 1924).

Aus den Befunden folgt, daß in irgendeiner Weise ♀ *bestimmende Faktoren aktiv die Entfaltung der ♂ Tendenz hemmen.*

Ferner ist die Wirkungsstärke dieser Faktoren unter gewissen Bedingungen stärker von entwicklungsphysiologischen Gegebenheiten abhängig als von ihren Genen. Einmal aufgetretene Veränderungen im Stärkeverhältnis der sexuellen Tendenzen *gleichen sich nur mit Verzögerung aus, im Extremfall überhaupt nicht.* Das bedeutet, daß sich bei der *Regeneration* geschlechtsreifer, gemischtgeschlechtiger Pflanzen *nicht in jedem Fall der gleiche physiologische* (entdeterminierte) *Startzustand einstellt* (vgl. dazu die Regenerationsexperimente von CORRENS 1919 und v. WETTSTEIN 1924 mit sexuell determinierten Geweben bzw. Zellen von *Funaria hygrometrica*). Das gilt nicht nur für den Vergleich der Regenerationsprodukte der (☿)♀ und der stabilen (☿)♂ Pflanzen, sondern auch für die Regenerationsprotonemen der Zwitter. Wir erhalten hier nicht selten von einer einzigen Pflanze Protonemen, welche geschlechtlich verschieden ausgeprägte Pflanzen hervorbringen. Wir haben dann also den sexuellen Verteilungstyp der *Rhizautözie*. Dies ist nur so zu erklären, daß bereits in der Mutterpflanze die verschiedenen regenerierenden Gewebeteile ein verschiedenes Stärkeverhältnis der sexuellen Tendenzen aufweisen, wobei in einigen Teilen die ♀ Tendenz bereits völlig blockiert sein kann. Das gestörte Gleichgewicht der sexuellen Tendenzen teilt sich auch den regenerierenden Zellen mit.

Das relativ häufige Abspalten der reinen, konstanten Männchen [(☿)♂] aus den (☿)♀ Ausgangskulturen sieht formal wie ein „Dominanzwechsel" der sexuellen Tendenzen aus. Aller Wahrscheinlichkeit nach handelt es sich aber nicht um eine Änderung im Genbestand. Gegen eine Mutation im herkömmlichen Sinne spricht, daß wir alle Übergänge von Zwittern über inkonstante, aber reine Männchen zu völlig konstanten Männchen finden, und daß die konstanten Männchen so häufig auftreten. Vorläufig müssen wir daher das Konstantwerden der Männchen zu den „Dauermodifikationen" rechnen, über deren Zustandekommen wir uns einige erste Vorstellungen machen können, über deren Wirkungsmechanismus wir jedoch noch nichts sagen können. Auffällig ist jedoch die bisher absolute Konstanz der Männchen. Seit der ersten Mitteilung eines Teiles der Befunde (BAUER 1957 b) sind weitere 32 vegetative Tochtergenerationen geprüft worden (zusammen also 52), ohne daß auch nur ein Ansatz zur Geschlechtsumkehr zu bemerken gewesen wäre. Die Frage, ob an der Zurückdrängung bzw. Unterdrückung der ♀ Tendenz Faktoren, welche vom anderen Geschlecht kontrolliert werden, beteiligt sind, oder ob geschlechtsunspezifische Hemmfaktoren, welche mit der Alterung der Kultur zusammenhängen, dafür verantwortlich sind, kann noch nicht beantwortet werden.

Splachnum luteum ist ein weiteres Beispiel dafür, daß die sexuelle Determinierung und die Prozesse, welche die Geschlechtsreife beherrschen, keineswegs identisch sind (vgl. auch SCHWEIZER; HOFFMANN 1956, 1957). In unserem Fall kann man den Determinationsprozeß

bis zurück in den Muttersproß verfolgen, so daß bereits die ersten regenerierenden Protonemafäden in bezug auf das sich manifestierende Geschlecht determiniert sind.

Sicherlich haben nicht alle Fälle von *Rhizautözie* diesen Entwicklungsmodus. Es sei daran erinnert, daß sich auch in *primären* (☿)♀ Protonemakulturen aus spät angelegten Knospen rein ♂ Pflanzen entwickeln können. Es muß daher damit gerechnet werden, daß bereits auf dem Protonemastadium die gleichen Veränderungen im Stärkeverhältnis der sexuellen Tendenzen eintreten können, wie sie oben für geschlechtsreife Moosstämmchen angenommen worden sind (es sei denn, daß man eine Übertragung männchenbestimmender Stoffe aus den zwittrigen Pflanzen des gleichen Kulturröhrchens in Erwägung zieht).

Man kann die sexuellen Verteilungstypen von *Splachnum sphaericum* (Schweizer), *Bryum capillare* und *Barbula unguiculata* (Hoffmann) prinzipiell in gleicher Weise erklären; bei *Barbula* wären dabei allerdings schon unmittelbar bei oder nach dem Regenerationsvorgang am Sporogon die physiologischen Voraussetzungen für eine Blockierung einer der geschlechtlichen Tendenzen gegeben.

Zusammenfassung

1. Das haplodiözische *Splachnum luteum* besitzt einen ausgeprägten Geschlechtsdimorphismus.

2. Bereits auf dem Protonemastadium lassen sich physiologische Unterschiede der Geschlechter erkennen.

Weibliche Protonemen (♀ bzw. ♀♀) haben eine etwas schnellere Zellteilungsfolge als die entsprechenden Männchen (♂ bzw. ♂♂).

Im ♂ Geschlecht wird durch Protonema-„Verjüngung" die Knospenbildungstendenz stärker zurückgedrängt als im ♀.

3. Während der vegetativen Phase der Moosstämmchen lassen sich keine Unterschiede in der Blattzuwachsrate statistisch sichern.

4. Bei Zuckerfütterung unter schwach alkalischen Bedingungen geben die Sprosse große Mengen eines gelbbraunen Farbstoffes in das Medium ab. ♀ Sprosse beginnen damit 5—10 Tage eher als die ♂.

5. Die Geschlechtsreife tritt in allen untersuchten männlichen Sprossen — ♂ bzw. ♂♂ und (☿)♂ — früher ein als in den vergleichbaren weiblichen — ♀ bzw. ♀♀ und (☿)♀.

6. Während der sexuellen Reifung reichern sich im Sproß stoffliche Faktoren an, welche in die Tochtersprosse übertreten und in diesen die Geschlechtsreife beschleunigen oder unter Bedingungen, unter welchen die Geschlechtsreife nicht induziert wird (Dunkelheit), die Bildung von Gametangien ermöglichen.

7. Die Sporogonregeneratsippe ist protogyn [(☿)♀]. Unter guten vegetativen Verhältnissen tritt die ♂ Tendenz nie in Erscheinung.

8. In alternden Kulturen leiten sich von den (☿)♀ Pflanzen Zwitter und reine — teils stabile, teils instabile — Männchen [(☿)♂] ab.

9. Bei der vegetativen Vermehrung der Zwitter und instabilen (☿)♂ Pflanzen treten trotz der Prävalenz des ♀ Geschlechtes Nachwirkungen der ♂ Tendenz in den Tochtersprossen auf.

10. Für die ♂ Ausprägung der gemischtgeschlechtigen Pflanzen wird eine allmähliche Abschwächung und schließlich Blockierung der ♀ Tendenz verantwortlich gemacht.

Das völlige Konstantwerden der (☿)♂ Pflanzen ist nicht als genetische Abänderung, sondern als Dauermodifikation zu verstehen.

Literatur

Arens, P.: Die Geschlechterverteilung bei einigen *Splachnaceen*. Ber. dtsch. bot. Ges. **57**, 486—494 (1939). — Bauer, L.: Regenerationsversuche am Sporogon von *Physcomitrium piriforme* (Brid.). Ber. dtsch. bot. Ges. **70**, 424—432 (1957a). — Über Besonderheiten der Geschlechtsdifferenzierung bei einigen *Splachnaceen*. Ber. dtsch. bot. Ges. **70**, (13)—(14) (1957b). — Differenzierungsanomalien im Bereich der Gametangien von Laubmoosen. (Druck in Vorbereitung). — Bornhagen, H.: Geschlechtsverteilung und Geschlechtsdimorphismus bei *Splachnum ampullaceum* L. und *Splachnum sphaericum* (L. f.). Beih. bot. Zbl. **46**, 1, 407—434 (1930). — Correns, C.: Die geschlechtliche Tendenz der Keimzellen gemischtgeschlechtiger Pflanzen. Z. Bot. **12**, 49—60 (1920). — Bestimmung, Vererbung und Verteilung des Geschlechtes bei den höheren Pflanzen. Im Handbuch der Vererbungswissenschaft, herausgeg. von E. Baur u. M. Hartmann, Bd. II. Berlin 1928. — Czapek, F.: Zur Chemie der Zellmembranen bei Laub- und Lebermoosen. Flora (Jena) **86**, 361—381 (1899). — Dening, K.: Untersuchungen über sexuellen Dimorphismus der Gametophyten bei heterothallischen Laubmoosen. Flora (Jena) **130**, 57—86 (1935/36). — Ernst-Schwarzenbach, M.: Zur Kenntnis des sexuellen Dimorphismus der Laubmoose. Arch. Klaus-Stift. Vererb.-Forsch. **14**, 361—474 (1939). — Hartmann, M.: Die Sexualität, 2. Aufl. Stuttgart 1956. — Herzfelder, H.: Beiträge zur Frage der Moosfärbungen. Beih. bot. Zbl. **38**, 355—400 (1921). — Hoffmann, A.: Untersuchungen über die Geschlechtsdifferenzierung bei haploiden und diploiden Gametophyten von *Bryum capillare* L. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **87**, 753—768 (1956). — Untersuchungen über die Geschlechtsdifferenzierung bei haploiden und diploiden Gametophyten von *Barbula unguiculata* (Hudson) Hedwig. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **88**, 374—387 (1957). — Moutschen, J.: Quelques considérations sur l'aposporie chez les mousses. VIII. Congr. Internat. Bot. Sec. **16**, 114—121 (1954). — Schellenberg, G.: Über die Verteilung der Geschlechtsorgane der Laubmoose. Beih. bot. Zbl. **37**, 1, 115—153 (1920). — Schweizer, J.: Polyploidie und Geschlechtsverteilung bei *Splachnum sphaericum* (L. f.) Swartz. Flora (Jena) **116**, 1—72 (1923). — Wettstein, D. v.: Beeinflussung der Polarität und undifferenzierte Gewebebildung aus Moossporen. Z. Bot. **41**, 199—226 (1953). — Wettstein, F. v.: Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Moose auf genetischer Grundlage. I. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **33**, 1—236 (1924). — Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Moose auf genetischer Grundlage. II. Bibl. genet. **10**, 1—214 (1928).

Dozent Dr. Leopold Bauer, Botanisches Institut der Universität, Tübingen, Wilhelmstraße 5

Planta 53, 647—669 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

DIE AUSLÖSUNG ENDOGEN-TAGESPERIODISCHER VORGÄNGE BEI PFLANZEN DURCH EINMALIGE REIZE

Von

LUDWIG WASSERMANN

Mit 15 Textabbildungen

(Eingegangen am 10. Juni 1959)

Einleitung

Die zahlreichen in den letzten Jahren durchgeführten Arbeiten zum Problem der endogenen Tagesrhythmik bei Pflanzen und Tieren betrafen vor allem die *Regulierung* und *Beeinflussung* der „inneren Uhr" (s. Zusammenfassung BÜNNING 1958b). Nur wenige Untersuchungen beschäftigten sich mit der *Auslösung* der endogen tagesrhythmischen Prozesse.

Pflanzen, die unter konstanten Licht- und Temperaturbedingungen aufwachsen, zeigen keine tagesperiodischen Erscheinungen (BÜNNING 1931, LÖRCHER 1958). Bei der Untersuchung der tagesperiodischen Bewegung der Primärblätter von *Phaseolus* stellte BÜNNING (1931) fest, daß bei Pflanzen, die in Dunkelheit aufgezogen worden waren — also keine Bewegung zeigten —, ein kurzer Lichtreiz klare tagesperiodische Blattbewegung auslöst.

Die Analyse der Blattbewegung von *Phaseolus* führte BÜNNING (1931) zu der Vermutung, daß die normale tagesperiodische Bewegung der Blätter durch Synchronisation von mehreren, etwa an die Einzelzellen gebundenen Schwingungen entsteht. In den Fällen, in denen eine tagesperiodische Bewegung nicht nachweisbar ist, sollen die der beobachtbaren Rhythmik zugrunde liegenden Systeme phasenverschoben schwingen und sich dadurch in ihrer Wirkung gegenseitig aufheben.

Die Beobachtung, daß in pflanzlichen Gewebekulturen (ENDERLE 1951) und bei der einzelligen Alge *Gonyaulax* (HASTINGS et al. 1956) endogen periodische Prozesse ablaufen, zeigte, daß die endogene Rhythmik tatsächlich, wie es diese Deutung voraussetzt, in der Einzelzelle ablaufen kann (BÜNNING 1958a).

Ausgehend von den Untersuchungen BÜNNINGS und SCHÖNE-SCHNEIDERHÖHNS (1957), die eine tagesperiodische Größenänderung der Zellkerne in *Phaseolus-* und *Allium*epidermen feststellten, soll in der vorliegenden Arbeit geprüft werden, ob die Hypothese der Auslösung der endogenen Rhythmik durch Synchronisation unabhängig voneinander

schwingender Einzelsysteme zu Recht besteht. Die Möglichkeit dazu bot sich in vergleichenden Untersuchungen der Zellkerngrößenschwankungen von im Dauerlicht angezogenen Pflanzen mit solchen, die einem normalen Licht-Dunkel-Wechsel ausgesetzt waren.

Im Verlauf der Arbeit ergab sich die Notwendigkeit, Untersuchungen über die Auslösung der tagesperiodischen Blattbewegung durch kurze Dunkelperioden anzustellen. LÖRCHER (1958) teilte Versuche mit, bei denen er zeigen konnte, daß durch einmalige Unterbrechung von Dauerblaulicht durch 12 Std Dunkelheit 48 Std nach Wiederbeginn des Blaulichts eine geordnete Bewegung der Blätter zu erkennen ist. Mit den im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Befunden soll eine Klärung des Mechanismus der Auslösung der Blattbewegung von *Phaseolus* durch solche Dunkelperioden angestrebt werden.

I. Material und Methode

Als Versuchspflanze diente für die Kerngrößenmessungen *Vicia faba*, für die Blattbewegungsversuche *Phaseolus multiflorus*. Die Samen wurden von der Gärtnerei Hild, Marbach a. Neckar, bezogen. Sie wurden in Leitungswasser 3—4 Std eingequollen und dann in Töpfe mit gewöhnlicher Gartenerde eingelegt. Vom Beginn des Einquellens an standen die Pflanzen in Klimakammern bei 20 ± 1° C und etwa 60% Luftfeuchtigkeit. Als Beleuchtung dienten Leuchtstoffröhren (Osram HNT und HNW 40 W im Verhältnis 1:2). Die Beleuchtungsstärke betrug in Höhe der Primärblätter (bei *Phaseolus*) bzw. des 5. Knotens (bei *Vicia*) etwa 1000 Lux.

1. Kerngrößenmessungen

Vicia faba zeigt unter den oben angegebenen Anzuchtbedingungen geringeres Etiolement als Pflanzen, die im Gewächshaus bei natürlichem Licht aufgewachsen waren. Für die Kerngrößenmessungen wurde das aus zwei Fiederblättchen bestehende Blatt am 5. Knoten verwendet. Nach 3 Wochen hatte dieses Blatt sein Flächenwachstum beendet und wurde zur Untersuchung benutzt. Mit einer Rasierklinge wurden von der Oberseite des Blattes kleine Flächenschnitte angefertigt und in 2,5%iger Rohrzuckerlösung (GEITLER 1949) mikroskopisch untersucht.

Zur Messung der Zellkerngröße wurde das mikroskopische Bild (Leitz-Objektiv 0,85, 42:1) mittels eines Zeichenspiegels auf einen Bogen weißes Papier projiziert und nach Scharfeinstellung die Umrisse der Zellkerne mit dem Bleistift nachgezogen. Da es nur auf Vergleichsmessungen ankam, war es nicht nötig, die absolute Kerngröße zu ermitteln. An ungefärbten Zellkernen läßt sich die Dicke mit Hilfe der Mikrometerschraube nicht genau bestimmen, deshalb wurde darauf verzichtet.

Die auf diese Weise erhaltenen Zellkernflächen wurden mit einem Planimeter ausgemessen. Jede Kernfläche wurde 20mal umfahren und aus dem erhaltenen Wert das arithmetische Mittel gebildet. Alle hier angegebenen Zellkerngrößen sind in Quadratmillimetern ausgedrückt.

Um die Genauigkeit der Messungen zu überprüfen, wurden mehrere Zellkerne jeweils 40mal — nach stets erneuter Scharfeinstellung mit der Mikrometerschraube — projiziert und die Umrisse nachgezeichnet. Die planimetrische Ausmessung ergab einen mittleren Fehler von ± 0,4 mm². Da bei der planimetrischen Messung nur ganze Quadratmillimeter abgelesen werden können, ist der durch die Aufzeichnung und Ablesung entstandene Fehler zu vernachlässigen.

Für diese Größenmessungen wurden nur Zellkerne von Epidermiszellen der Blattoberseite verwendet. Da *Vicia faba* auch auf der Oberseite der Blätter zahlreiche Spaltöffnungen besitzt und überdies nicht in allen Zellen die Zellkerne erkennbar sind, mußten zur Gewinnung von 40—70 Zellkernmessungen meist 5—6 Flächenschnitte durchmustert werden. Dazu war etwa eine halbe Stunde nötig. Während dieser Zeit war eine Änderung der Zellkerngröße nicht feststellbar.

Von einem Fiederblättchen konnten höchstens 8mal 5 Flächenschnitte entnommen werden; dadurch war die Beobachtungszeit für die rythmische Größenänderung der Zellkerne begrenzt.

Wie die Ergebnisse der Messungen an Dauerlicht-Pflanzen zeigen (s.u.), treten Veränderungen der Zellkerngröße durch Wundreiz nicht auf.

2. *Blattbewegungsversuche*

Phaseolus multiflorus wurde in üblicher Weise bandagiert (Bünning 1931) und die Blattbewegung mittels einer Stahlnadel von 20 cm Länge auf einer berußten Registriertrommel aufgezeichnet. Bei den abgebildeten Blattbewegungskurven bedeutet eine Kurvenhebung eine Blattsenkung und umgekehrt.

3. *Auswertung der Versuche*

Bei den Blattbewegungsversuchen wurde das zeitliche Auftreten der Senkungsmaxima angegeben. Die Werte stellen Mittelwerte aus verschiedenen Kurven dar. Der angegebene mittlere Fehler des Mittelwertes wurde nach der Formel

$$\bar{m} = \sqrt{\frac{\Sigma \Delta^2}{n\,(n-1)}}$$

berechnet. Bei den Kerngrößenmessungen wurde außerdem noch die Streuung

$$\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma \Delta^2}{n-1}}$$

angegeben.

In den Formeln bedeutet Δ Abweichung vom Mittelwert, n Zahl der Messungen.

II. Versuche und Ergebnisse

1. *Der Verlauf der tagesperiodischen Größenänderung der Zellkerne von Vicia faba*

a) Licht-Dunkel-Pflanzen. Bünning und Schöne-Schneiderhöhn (1957) führten ihre Untersuchungen an Pflanzen aus, die unter natürlichem Licht-Dunkel-Wechsel und unter Temperaturschwankungen im Gewächshaus aufgewachsen waren. Zum Nachweis der endogenen Rhythmik wurde von ihnen der Verlauf der Zellkerngrößenänderung gemessen, nachdem die Pflanzen in Klimakammern mit Dauerlicht und konstanter Temperatur gebracht worden waren.

Für die vorliegende Untersuchung war es im Interesse der Vergleichbarkeit notwendig, die Pflanzen von der Keimung an unter konstanten Bedingungen aufzuziehen. Die Pflanzen, denen periodisch Licht und Dunkelheit geboten wurde (im nachfolgenden immer als Licht-Dunkel-Pflanzen bezeichnet), wuchsen im gleichen Raum (Klimakammer) wie die Dauerlichtpflanzen auf. Während der Nacht wurden die Licht-Dunkel-Pflanzen mit einem lichtdichten Dunkelsturz bedeckt.

In allen Fällen wurden die Nachschwingungen der Größenänderung der Zellkerne untersucht, d.h., nach Beendigung des Licht-Dunkel-Wechsels standen die Pflanzen im Dauerlicht derselben Klimakammer.

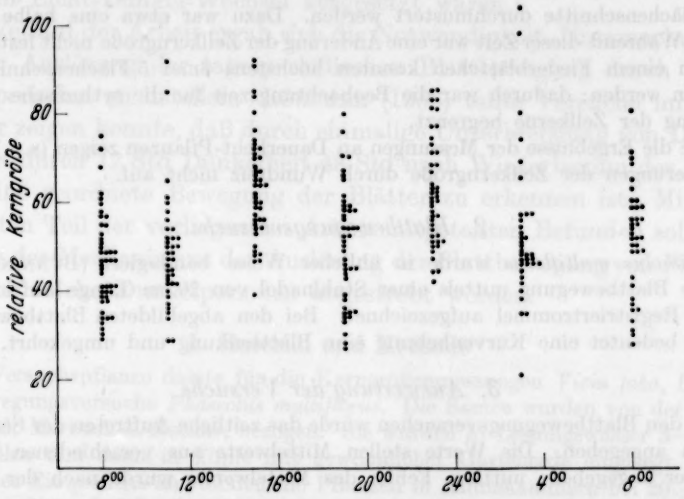

Abb. 1. *Vicia faba.* Verlauf der Zellkerngrößenänderung in Abhängigkeit von der Zeit bei Pflanzen, die im Licht-Dunkel-Wechsel (11:13) aufgewachsen waren und dann im Dauerlicht gehalten wurden. *Abszisse*: Zeit; *Ordinate*: relative Kerngröße

Die erste Probe wurde 24 Std nach Dauerlichtbeginn entnommen, danach je eine weitere im Abstand von 4 Std.

Tabelle 1. *Mittelwerte zu dem in Abb. 1 dargestellten Verlauf der Zellkerngrößenänderung in Abhängigkeit der Zeit*

Zeit der Messung	Mittelwert	Zahl der ausgemessenen Zellkerne
8^{00}	$47{,}0 \pm 1{,}6$	45
11^{00}	$48{,}7 \pm 2{,}1$	37
15^{00}	$63{,}5 \pm 1{,}8$	43
19^{00}	$52{,}1 \pm 2{,}0$	44
23^{00}	$62{,}3 \pm 1{,}9$	43
3^{30}	$52{,}5 \pm 2{,}7$	36
8^{00}	$51{,}6 \pm 2{,}1$	36

Abb. 1 zeigt den tageszeitlichen Verlauf der Größenänderung der Zellkerne. In der Darstellung ist die Größe jedes Zellkerns mit einem Punkt bezeichnet. So erkennt man für jeden Zeitpunkt die Häufigkeitsverteilung der Zellkerngrößen.

Nach Versuchbeginn (24 Std nach Dauerlichtbeginn) zeigt sich ein Ansteigen der Zellkerngröße bis zu einem ersten Maximum um 15^{00}. Danach sinkt sie wieder etwas ab, um gegen Mitternacht ein zweites Maximum zu erreichen. 24 Std nach Versuchsbeginn wird wieder der Ausgangswert erreicht. Die Mittelwerte mit den entsprechenden mittleren Fehlern sind in Tabelle 1 angegeben.

Das vorliegende Ergebnis bestätigt die Befunde von BÜNNING und SCHÖNE-SCHNEIDERHÖHN (1957); allerdings stimmt die dort angegebene zeitliche Verteilung der Maxima und Minima der Zellkerngrößen mit

den hier gefundenen nicht überein. Während Bünning und Schöne-Schneiderhöhn die größten Zellkerne am Ende der Dunkelperiode und zu Beginn der Lichtperiode fanden und angeben, daß im Laufe des Tages die Zellkerngröße abnimmt, ergeben die hier geschilderten Versuche bei *Vicia faba* gerade umgekehrte Verhältnisse: Während des Tages und in der ersten Nachthälfte nimmt die Zellkerngröße zu, um gegen Morgen wieder abzusinken. Diese Unterschiede können auf die verschiedenen Aufzuchtbedingungen zurückzuführen sein.

b) Untersuchungen an Dauerlicht-Pflanzen. Zunächst mußte der Verlauf der Zellkerngrößenänderung an Dauerlicht-Pflanzen untersucht werden. Wie schon erwähnt, zeigten Pflanzen, die unter konstanten

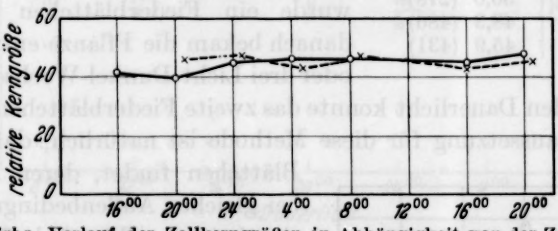

Abb. 2. *Vicia faba.* Verlauf der Zellkerngrößen in Abhängigkeit von der Zeit bei zwei verschiedenen Fiederblättchen einer Pflanze, die im Dauerlicht aufgewachsen war. *Abszisse*: Zeit; *Ordinate*: relative Kerngröße

Licht- und Temperaturverhältnissen aufwachsen, bekanntlich keine tagesperiodischen Erscheinungen. Nur Kleinhoonte (1932) berichtet über gegenteilige Beobachtungen.

Abb. 2 zeigt den Verlauf der Zellkerngröße für zwei verschiedene Fiederblättchen einer Pflanze, die im Dauerlicht und bei konstanter Temperatur aufgewachsen war. Die Schwankungen der Mittelwerte sind gering, eine Tagesperiodizität ist nicht zu erkennen.

Um die in der Einleitung erwähnte Deutung der Auslösung tagesperiodischer Erscheinungen als Synchronisation zu prüfen, wurden die Kerngrößen von Dauerlicht-Pflanzen mit denen von Licht-Dunkel-Pflanzen verglichen, und zwar wurden zunächst die Mittelwerte aller in einem Zeitraum von 24 Std gemessenen Zellkerngrößen von Dauerlicht-Pflanzen denen von Licht-Dunkel-Pflanzen gegenübergestellt. Das Ergebnis gibt Tabelle 2 wieder.

Tabelle 2 zeigt deutlich, daß die Mittelwerte der Zellkerngröße von Dauerlicht-Pflanzen immer niedriger liegen als diejenigen der Licht-Dunkel-Pflanzen.

c) Vergleichende Untersuchung der Zellkerngröße im Dauerlicht und nach Licht-Dunkel-Wechsel an der gleichen Pflanze. Die eben beschriebenen Versuche geben einen ersten Hinweis darauf, daß die Kerngrößenverteilung im Dauerlicht anders ist als bei Pflanzen, die einem Licht-Dunkel-Wechsel ausgesetzt waren. Für eine genauere Analyse eignen

Tabelle 2. *Mittelwerte aller während 24 Std gemessenen Zellkerngrößen. Vergleich von Dauerlicht-Pflanzen mit gleichaltrigen Dunkel-Pflanzen (5 verschiedene Versuche)* In Klammern die Anzahl der gemessenen Zellkerne.

Dauerlicht-Pflanzen	Licht-Dunkel-Pflanzen
48,1 (313)	48,8 (323)
44,4 (338)	53,7 (284)
44,2 (272)	56,0 (278)
44,4 (483)	48,3 (486)
41,2 (356)	45,9 (431)

sich diese Versuche jedoch nicht, da ja immer verschiedene Pflanzen miteinander verglichen wurden, die zwar am gleichen Tag ausgesät worden waren, deren physiologisches Alter aber unterschiedlich sein kann. Deshalb wurde nach einer Methode gesucht, die es ermöglicht, eine Pflanze sowohl im Dauerlicht als auch im Licht-Dunkel-Wechsel zu untersuchen.

Zunächst wurden die Pflanzen im Dauerlicht angezogen; nach etwa 3 Wochen wurde ein Fiederblättchen untersucht, danach bekam die Pflanze entweder einen oder drei Licht-Dunkel-Wechsel. Im daran anschließenden Dauerlicht konnte das zweite Fiederblättchen untersucht werden. Voraussetzung für diese Methode ist natürlich, daß man zwei Blättchen findet, deren Kerngrößen bei gleichen Außenbedingungen übereinstimmen. Wie Abb. 3 zeigt, gilt dies sehr gut für die beiden Fiederblättchen des 5. Knotens. Die Abbildung zeigt die Zellkerngrößenverteilung der beiden Fiederblättchen im Dauerlicht aller in einem Zeitraum von 24 Std gemessenen Zellkerne. Die Übereinstimmung der Häufigkeitsverteilungen kommt auch in den Mittelwerten (44,4 und 44,2) zum Ausdruck. Auch die Mittelwerte der zu den verschiedenen Tageszeiten gemessenen Kerngrößen stimmen gut überein. Es besteht somit die Möglichkeit, die Untersuchung in der angegebenen Weise anzustellen.

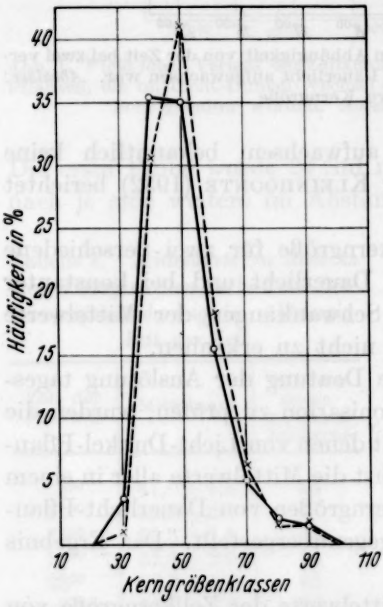

Abb. 3. Häufigkeitsverteilung der Kerngrößen von zwei Fiederblättchen des Blattes am 5. Knoten von *Vicia faba*, die im Dauerlicht aufgewachsen war. *Abszisse:* Kerngrößenklassen; *Ordinate:* prozentuale Häufigkeit; ------- Fiederblättchen I; ——— Fiederblättchen II

Abb. 4 zeigt die Ergebnisse eines solchen Versuchs. Zunächst wurden die Zellkerngrößen des einen Fiederblättchens im Dauerlicht mehrmals im Abstand von 4—8 Std bestimmt, danach bekam die Pflanze dreimal einen 11:13stündigen Licht-Dunkel-Wechsel. Im anschließenden Dauerlicht wurden dann die Kerngrößen des zweiten Fiederblättchens alle 4 Std untersucht.

Während des anfänglichen Dauerlichts ändert sich die Zellkerngröße unwesentlich. Das entspricht ja auch den obenerwähnten Dauerlicht-

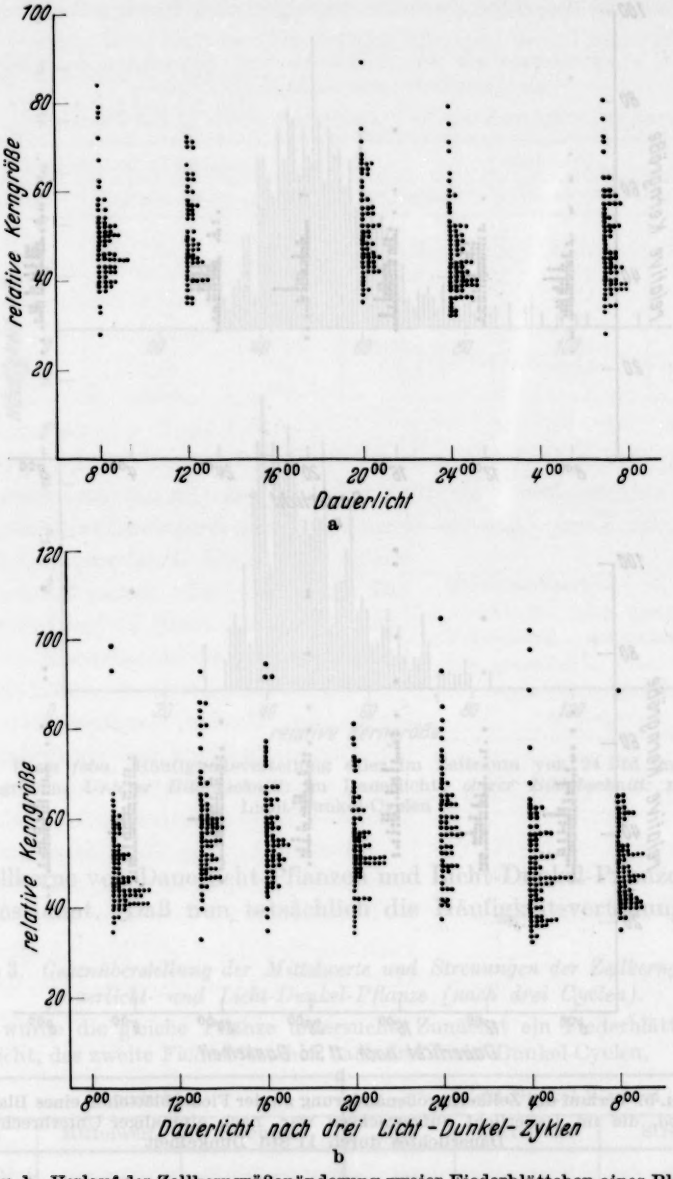

Abb. 4 a u. b. Verlauf der Zellkerngrößenänderung zweier Fiederblättchen eines Blattes von *Vicia faba*, die im Dauerlicht aufgewachsen war, im Dauerlicht und nach drei Licht-Dunkel-Cyclen

Versuchen. Nach Beendigung der dritten Dunkelperiode steigt die Zellkerngröße im anschließenden Dauerlicht an und erreicht nach 8 Std

einen Maximalwert, der mehrere Stunden beibehalten wird. Nach 24^{00} sinkt die Zellkerngröße auf den Ausgangswert ab.

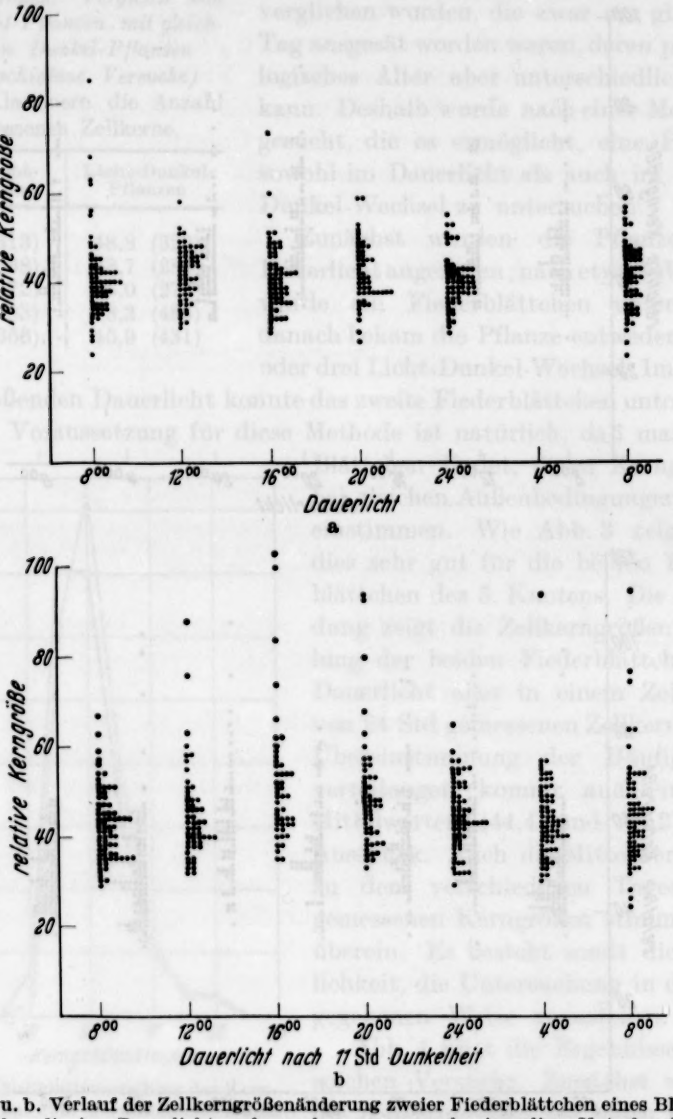

Abb. 5 a u. b. Verlauf der Zellkerngrößenänderung zweier Fiederblättchen eines Blattes von *Vicia faba*, die im Dauerlicht aufgewachsen war, nach einmaliger Unterbrechung des Dauerlichtes durch 11 Std Dunkelheit

Einen ähnlichen Verlauf zeigt die Kerngrößenänderung bei einmaliger Unterbrechung des Dauerlichts durch 11 Std Dunkelheit (Abb. 5).

d) Analyse und Deutung der Befunde. Die Gegenüberstellung der Mittelwerte der Zellkerngrößen von Dauerlicht- und Licht-Dunkel-

Pflanzen zeigte, daß die Mittelwerte der Licht-Dunkel-Pflanzen höher liegen. Dies gab den ersten Hinweis darauf, daß die Größenverteilung

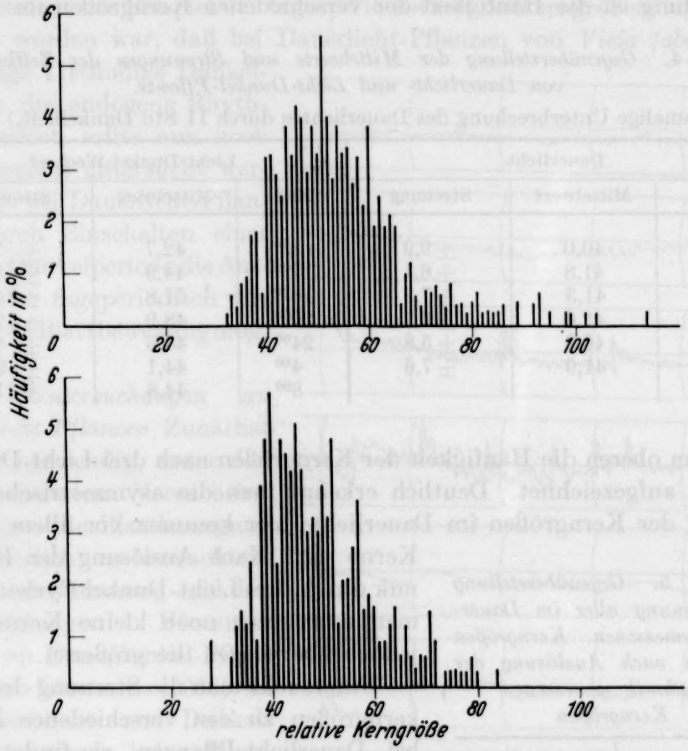

Abb. 6. *Vicia faba.* Häufigkeitsverteilung aller im Zeitraum von 24 Std gemessenen Zellkerngrößen. *Unterer Bildabschnitt*: im Dauerlicht; *oberer Bildabschnitt:* nach drei Licht-Dunkel-Cyclen

der Zellkerne von Dauerlicht-Pflanzen und Licht-Dunkel-Pflanzen nicht übereinstimmt. Daß nun tatsächlich die Häufigkeitsverteilungen der

Tabelle 3. *Gegenüberstellung der Mittelwerte und Streuungen der Zellkerngröße von Dauerlicht- und Licht-Dunkel-Pflanze (nach drei Cyclen).*

Es wurde die gleiche Pflanze untersucht. Zunächst ein Fiederblättchen im Dauerlicht, das zweite Fiederblättchen nach drei Licht-Dunkel-Cyclen.

Dauerlicht			Licht-Dunkel-Wechsel		
Zeit	Mittelwert	Streuung	Zeit	Mittelwert	Streuung
8^{00}	49,3	± 10,5	9^{00}	49,2	± 10,5
12^{00}	50,8	± 10,2	12^{30}	58,3	± 11,5
20^{00}	52,1	± 10,6	16^{00}	57,3	± 12,2
24^{00}	45,5	± 9,6	20^{00}	55,3	± 12,5
7^{00}	48,2	± 10,9	24^{00}	59,9	± 13,0
			4^{00}	49,3	± 8,0

Zellkerngrößen von Dauerlicht-Pflanzen und Licht-Dunkel-Pflanzen sehr voneinander abweichen, zeigt Abb. 6. Im unteren Abschnitt der Abbildung ist die Häufigkeit der verschiedenen Kerngrößen im Dauer-

Tabelle 4. *Gegenüberstellung der Mittelwerte und Streuungen der Zellkerngröße von Dauerlicht- und Licht-Dunkel-Pflanze.*
(Einmalige Unterbrechung des Dauerlichtes durch 11 Std Dunkelheit.)

Dauerlicht			Licht-Dunkel-Wechsel		
Zeit	Mittelwert	Streuung	Zeit	Mittelwert	Streuung
8^{00}	40,0	± 9,9	8^{00}	42,7	± 7,9
12^{00}	41,8	± 6,1	12^{00}	44,9	± 8,9
16^{00}	41,3	± 7,8	16^{00}	51,8	± 14,5
19^{00}	42,0	± 6,7	20^{00}	48,9	± 12,7
24^{00}	40,3	± 5,8	24^{00}	44,5	± 8,2
8^{00}	41,9	± 7,6	4^{00}	44,1	± 9,2
			8^{00}	44,8	± 11,7

licht, im oberen die Häufigkeit der Kerngrößen nach drei Licht-Dunkel-Cyclen aufgezeichnet. Deutlich erkennt man die asymmetrische Verteilung der Kerngrößen im Dauerlicht; hier kommen vor allem kleine Kerne vor. Nach Auslösung der Rhythmik durch drei Licht-Dunkel-Cyclen kommen zwar auch noch kleine Kerne vor, jedoch überwiegen die größeren.

Tabelle 5. *Gegenüberstellung der Streuung aller im Dauerlicht gemessenen Kerngrößen mit den nach Auslösung der Rhythmik gemessenen Kerngrößen*

Streuung im Dauerlicht	Streuung nach Auslösung der Rhythmik
44,4 ± 10,4	48,3 ± 12,3[1]
41,2 ± 7,4	45,9 ± 10,7[2]

[1] Nach 3 Licht-Dunkel-Cyclen.

[2] Nach einmaliger Unterbrechung des Dauerlichts durch 11 Std Dunkelheit.

Untersucht man die Streuung der Zellkerngrößen zu den verschiedenen Zeiten bei Dauerlicht-Pflanzen, so findet man stets niedrigere Werte als bei Licht-Dunkel-Pflanzen (Tabelle 3 und 4).

Betrachtet man die Gesamtstreuung aller im Dauerlicht gemessenen Kerngrößen und vergleicht sie mit der Streuung aller nach Auslösung der Rhythmik gefundenen Kerngrößen, so findet man auch da, daß im Dauerlicht die Streuung niedriger liegt als nach Licht-Dunkel-Wechsel (Tabelle 5).

Aus all diesen Ergebnissen ist zu folgern, daß die Verteilung der Kerngrößen der Dauerlicht-Pflanzen nicht identisch ist mit der von Licht-Dunkel-Pflanzen. Im Dauerlicht treten vor allem kleinere Zellkerne auf; die Streuung ist ebenfalls gering. Nach Auslösung der Rhythmik durch ein- oder mehrmaligen Licht-Dunkel-Wechsel treten auch größere Kerne auf. Die Minimalwerte entsprechen dabei den Werten der Dauerlicht-Pflanzen; dies zeigt sich sowohl an den Mittelwerten als auch an der Größe der Streuungen.

2. Untersuchungen über die Auslösung der tagesperiodischen Blattbewegung bei Phaseolus multiflorus

Nachdem am Beispiel der tagesperiodischen Zellkerngrößenänderung gezeigt worden war, daß bei Dauerlicht-Pflanzen von *Vicia faba* eine einmalige 11stündige Dunkelperiode die endogene Rhythmik auslöst, sollte nun noch an *Phaseolus* untersucht werden, ob bei Dauerlicht-Pflanzen durch Einschalten einer kurzen Dunkelperiode die Auslösung der tageperiodisch verlaufenden Blattbewegung möglich ist.

a) Untersuchungen an Dauerlicht-Pflanzen. Zunächst war es notwendig, unter den hier benutzten Versuchsbedingungen die Blattbewegung im Dauerlicht zu beobachten. In Übereinstimmung mit den Beobachtungen BÜNNINGS (1931) an Dauerdunkel-Pflanzen und LÖRCHERS (1958) an Dauerfarblicht- und Dunkel-Pflanzen wurde keine tagesperiodische Bewegung der Primärblätter gefunden (Abb. 7).

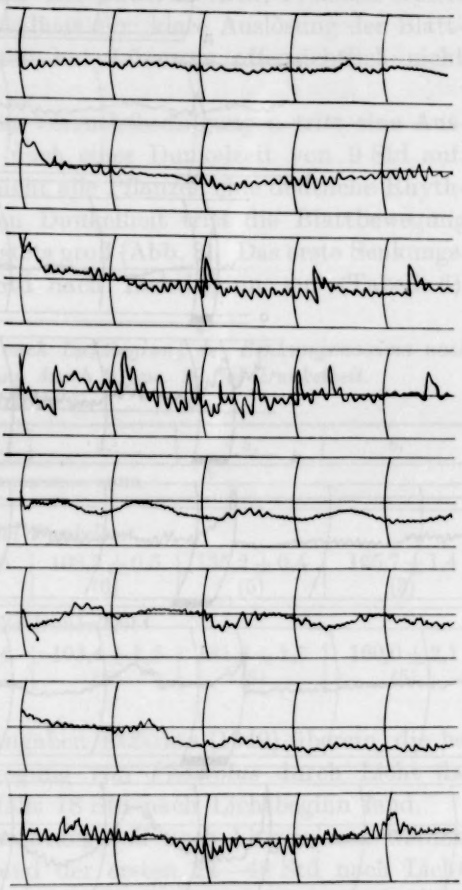

Abb. 7. Blattbewegung von Pflanzen, die im Dauerlicht aufgewachsen waren. Die Kreisbögen sind im Abstand von 24 Std eingezeichnet. (Diese und die folgenden Abbildungen beziehen sich auf *Phaseolus multiflorus*.)

Nur selten (so auch bei zwei der abgebildeten Kurven) zeigten sich schwache tagesperiodische Bewegungen. Auch LÖRCHER (1958) beobachtete, daß von seinen Dunkelpflanzen immer einige geringe tagesperiodische Bewegung zeigten, ohne daß ein auslösender Reiz auf sie eingewirkt hatte. KLEINHOONTE (1932), die an Dauerlicht-Pflanzen von *Canavalia* tagesperiodische Blattbewegungen feststellte, vermutete periodische Erschütterungen, wie sie in ihrem Laboratorium auftraten, als mögliche Ursache für die Auslösung der Bewegung. Im vorliegenden Falle ist die zuweilen bei Dauerlicht-Pflanzen auftretende Blattbewegung wohl darauf zurückzuführen, daß bei der Anzucht — infolge von Platzmangel in der Klimakammer — die Pflanzen sich mit ihren Primärblättern teilweise überdeckten und damit wechselnde Unterschiede in der Beleuchtungsstärke auftraten, die möglicherweise die Bewegung auslösten.

Bei den im folgenden mitgeteilten Versuchen wurde die Blattbewegung zunächst 1—2 Tage im Dauerlicht registriert; die Kurven von solchen Pflanzen

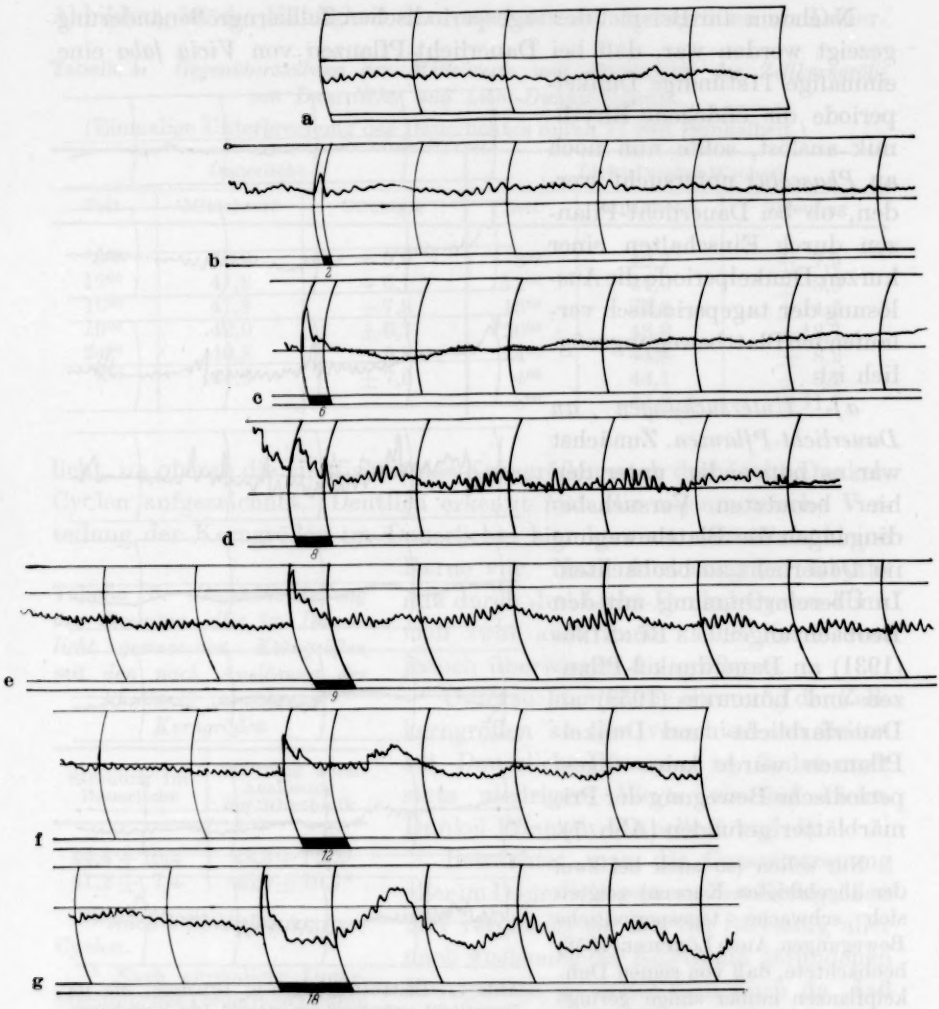

Abb. 8. Auslösung der tagesperiodischen Blattbewegung bei Pflanzen, die im Dauerlicht aufgewachsen waren, durch einmalige Unterbrechung des Dauerlichtes mit Dunkelheit unterschiedlicher Länge. a Dauerlicht; b 2 Std Dunkelheit; c 6 Std Dunkelheit; d 8 Std Dunkelheit; e 9 Std Dunkelheit; f 12 Std Dunkelheit; g 18 Std Dunkelheit; ■ Dunkelheit; □ Licht; Kreisbögen, wo sie nicht die Dunkelperiode abgrenzen, in Abständen von 24 Std

die schon im Dauerlicht tagesperiodische Bewegungen zeigten, wurden bei der Auswertung nicht berücksichtigt.

b) Bestimmung der minimalen Dunkelzeit, die für die Auslösung der tagesperiodischen Bewegung der Primärblätter von Phaseolus nötig ist. Bei *Vicia faba* genügte schon eine Unterbrechung des Dauerlichts durch

11 Std Dunkelheit, um im anschließenden Dauerlicht deutliche tagesperiodische Schwankungen der Zellkerngröße auszulösen. LÖRCHER (1958) gelang die Auslösung der Blattbewegung bei Dauerlicht-Pflanzen durch 12 Std Dunkelheit; allerdings zeigte sich eine eindeutige Bewegung erst einige Zeit nach Lichtbeginn. Bei Dauer-Rotlicht-Pf.anzen erhielt LÖRCHER nach 48stündiger Dunkelheit eine klare Auslösung der Blattbewegung. Kürzere Dunkelzeiten hat LÖRCHER offensichtlich nicht verwendet.

Unter den hier angewendeten Versuchsbedingungen tritt eine Auslösung der Blattbewegung erst nach einer Dunkelzeit von 9 Std auf. Jedoch zeigen auch dann noch nicht alle Pflanzen eine deutliche Rhythmik. Bei 12 und mehr Stunden Dunkelheit tritt die Blattbewegung immer auf, die Amplituden sind stets groß (Abb. 8). Das erste Senkungsmaximum tritt etwa 18—20 Std nach Lichtbeginn auf (Tabelle 6).

Tabelle 6. *Zeitliche Lage (Stunden nach Lichtbeginn) der Senkungsmaxima nach Auslösung der Blattbewegung durch 9 bzw. 20 Std Dunkelheit.* Anzahl der ausgewerteten Kurven in ().

1.	2.	3.	4.	5.	6.
Senkungsmaximum					
9 Std Dunkelheit					
$20{,}3 \pm 0{,}3$ (3)	$51{,}2 \pm 0{,}9$ (5)	$79{,}1 \pm 0{,}6$ (6)	$108{,}3 \pm 0{,}5$ (6)	$135{,}2 \pm 0{,}4$ (5)	$165{,}7 \pm 1{,}4$ (3)
20 Std Dunkelheit					
$17{,}7 \pm 0{,}3$ (4)	$46{,}0 \pm 0{,}9$ (4)	$74{,}2 \pm 0{,}4$ (5)	$103{,}4 \pm 1{,}2$ (5)	$131{,}6 \pm 1{,}7$ (5)	$160{,}0 \pm 2{,}1$ (5)

Dieser Wert stimmt mit den Angaben FLÜGELs (1949) überein, die bei der Regulierung der Blattbewegung von *Phaseolus* durch Licht das erste Senkungsmaximum ebenfalls 18 Std nach Lichtbeginn fand.

Auf eine interessante Beobachtung soll noch hingewiesen werden. Bei einigen Pflanzen ist während der ersten 24—48 Std nach Lichtbeginn eine eindeutige tagesperiodische Bewegung noch nicht erkennbar (Abb. 9). Erst danach beobachtet man unter allmählicher Zunahme der Amplitude deutlich tagesperiodische Bewegungen; dabei liegen die Hebungs- und Senkungsmaxima synchron zu denen solcher Pflanzen, die von Lichtbeginn an deutliche Bewegung zeigten.

c) Versuche mit aufgeteilten Dunkelzeiten. Für die Auslösung der tagesperiodischen Blattbewegung von Dauerlicht-Pflanzen sind mindestens 9 Std Dunkelheit notwendig. Es erhebt sich nun die Frage, ob diese Dunkelzeit ununterbrochen gegeben werden muß oder ob es möglich ist, die Blattbewegung auch auszulösen, indem man die Dunkelperiode durch eine Lichtperiode bestimmter Dauer unterbricht. Um

dies zu prüfen, wurden Versuche angesetzt, bei denen die Gesamtdunkelzeit 12 Std betrug. Diese 12 Std wurden in zwei Dunkelperioden von je 6 Std aufgeteilt und dazwischen eine Lichtperiode unterschiedlicher Länge eingeschaltet.

Die Blattbewegungskurven in Abb. 10 lassen erkennen, daß erst bei einer 8stündigen Unterbrechung der Dunkelperiode mit Licht die Blattbewegung nicht mehr auftritt. Beträgt die Dauer der eingeschalteten Lichtperiode 6 Std oder weniger, so wird die tagesperiodische Blattbewegung ausgelöst. Der Wiederbeginn des Dauerlichts wirkt

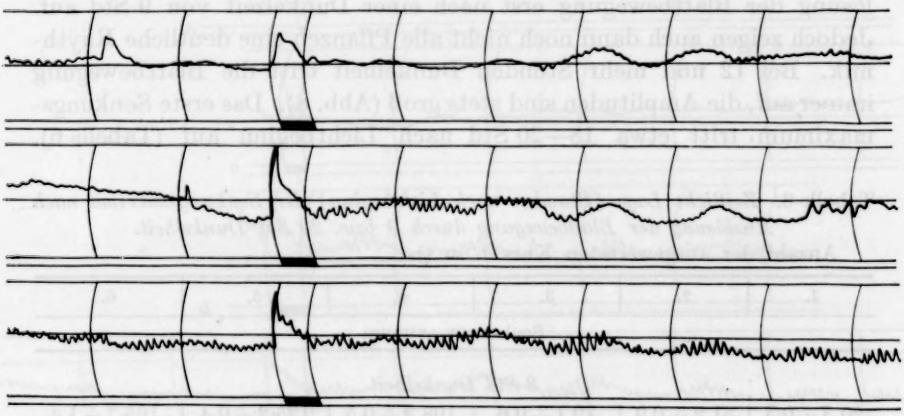

Abb. 9. Amplitudenzunahme der Blattbewegung bei Pflanzen, die im Dauerlicht aufgewachsen waren, nach Auslösung der Rhythmik durch 9 Std Dunkelheit. ■ Dunkelheit; □ Licht; Kreisbögen wie bei Abb. 8

dabei als Zeitgeber und bestimmt die Lage des ersten Senkungsmaximums; die Blattbewegung verläuft dabei synchron zu derjenigen von solchen Pflanzen, deren Rhythmik durch eine einmalige Dunkelperiode von 12 Std ausgelöst worden war (Abb. 10a).

d) Die im Anschluß an eine auslösende Dunkelperiode nötige Lichtzeit. Während der auslösenden Dunkelperiode muß ein Vorgang ablaufen, der zwar in der Blattbewegung nicht zum Ausdruck kommt, der aber die Vorbedingung dafür schafft, daß bei Lichtbeginn die tagesperiodische Bewegung der Blätter ausgelöst wird. Es erhebt sich die Frage, ob die Auslösung der Blattbewegung nur durch den Übergang von Dunkelheit zu Licht bewirkt wird oder ob nach einer auslösenden Dunkelperiode das Licht noch eine bestimmte Zeit einwirken muß, damit eine tagesperiodische Blattbewegung entsteht.

Zunächst sollte aber untersucht werden, ob auch der Übergang von Dauerlicht zu Dunkelheit tagesperiodische Bewegungen auslösen kann. Darüber liegen unterschiedliche Ergebnisse vor. BALL und DYKE (1954) fanden für die Wachstumsrhythmik der *Avena*koleoptile eine Auslösung beim Übergang von Dauer-Rotlicht zu Dauerdunkelheit. Nach KLEIN-

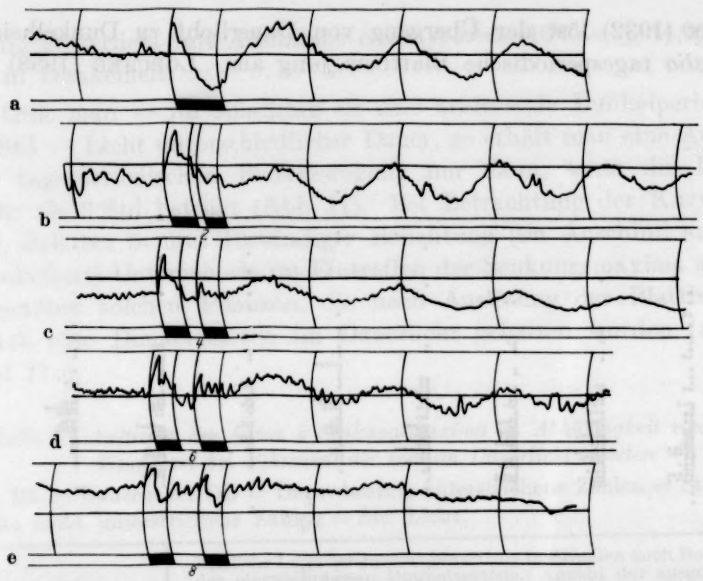

Abb. 10. Auslösung der Blattbewegung bei Pflanzen, die im Dauerlicht aufgewachsen waren, durch 12 Std Dunkelheit. Die Dunkelzeit wurde in zwei 6stündige Dunkelperioden aufgeteilt, dazwischen wurde Licht unterschiedlicher Dauer gegeben. a kein Licht; b 2 Std Licht zwischen den beiden Dunkelperioden; c 4 Std Licht zwischen den beiden Dunkelperioden; d 6 Std Licht zwischen den beiden Dunkelperioden; e 8 Std Licht zwischen den beiden Dunkelperioden; ■ Dunkelheit; □ Licht; Kreisbögen wie bei Abb. 8

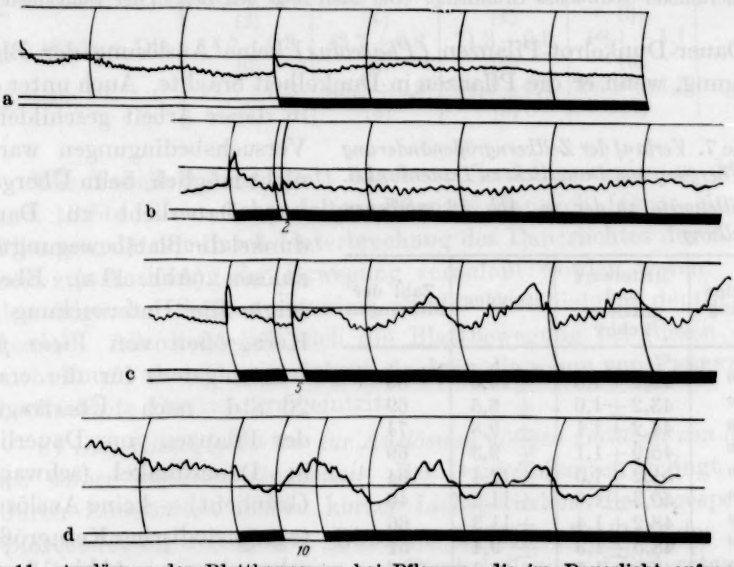

Abb. 11. Auslösung der Blattbewegung bei Pflanzen, die im Dauerlicht aufgewachsen sind, durch im Anschluß an 12 Std Dunkelheit gebotenes Licht unterschiedlicher Dauer. a Übergang von Dauerlicht zu Dauerdunkel; b 2 Std Licht nach 12 Std Dunkelheit, anschließend Dauerdunkel; c 5 Std Licht nach 12 Std Dunkelheit, anschließend Dauerdunkel; d 10 Std Licht nach 12 Std Dunkelheit, anschließend Dauerdunkel; ■ Dunkelheit; □ Licht; Kreisbögen wie bei Abb. 8

HOONTE (1932) löst der Übergang von Dauerlicht zu Dunkelheit bei *Canavalia* tagesperiodische Blattbewegung aus. LÖRCHER (1958) fand

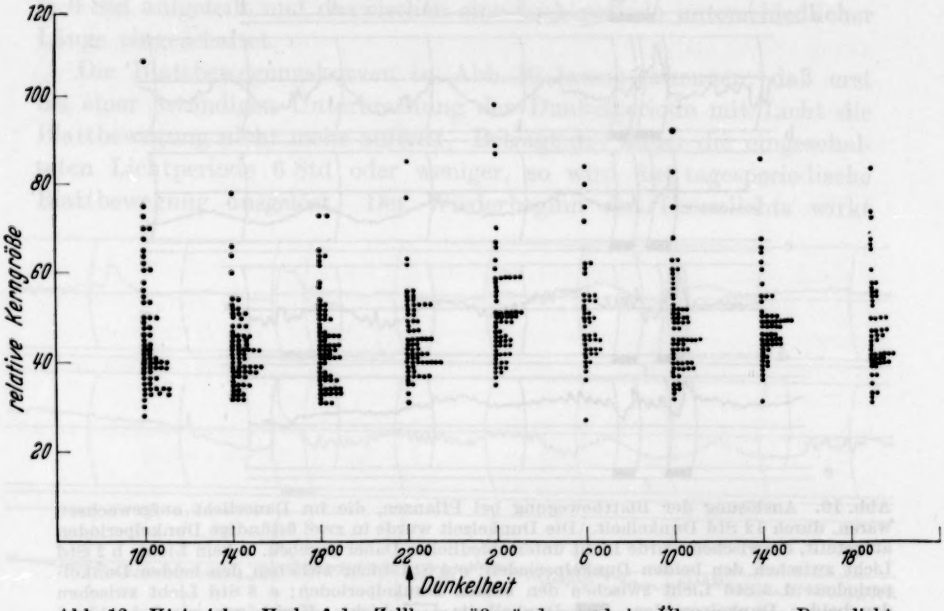

Abb. 12. *Vicia faba.* Verlauf der Zellkerngrößenänderung beim Übergang von Dauerlicht zu Dauerdunkel (schwaches Grünlicht). (Der Pfeil zeigt den Beginn der Dunkelheit an.)

bei Dauer-Dunkelrot-Pflanzen *(Phaseolus)* keine Auslösung der Blattbewegung, wenn er die Pflanzen in Dunkelheit brachte. Auch unter den in dieser Arbeit geschilderten Versuchsbedingungen war es nicht möglich, beim Übergang von Dauerlicht zu Dauerdunkel die Blattbewegung auszulösen (Abb. 11a). Ebenso zeigte die Untersuchung der Kerngrößen von *Vicia faba* — wenigstens für die ersten 20 Std nach Übertragung der Pflanzen vom Dauerlicht in Dauerdunkel (schwaches Grünlicht) — keine Auslösung tagesperiodischer Kerngrößenschwankungen (Abb. 12 und Tabelle 7).

Tabelle 7. *Verlauf der Zellkerngrößenänderung beim Übergang von Dauerlicht zu Dauerdunkel.*

Mittelwerte zu der in Abb. 12 gegebenen Darstellung

Zeit der Messung	Mittelwert und mittlerer Fehler	Streuung	Zahl der Messungen
10^{00}	$46{,}2 \pm 1{,}8$	$\pm 14{,}0$	63
14^{00}	$43{,}2 \pm 1{,}0$	$\pm 8{,}5$	69
18^{00}	$44{,}2 \pm 1{,}1$	$\pm 9{,}8$	74
22^{00}	$45{,}9 \pm 1{,}1$	$\pm 9{,}3$	69
2^{00}	$51{,}2 \pm 1{,}5$	$\pm 12{,}4$	64
6^{00}	$50{,}3 \pm 1{,}6$	$\pm 11{,}2$	46
10^{00}	$48{,}2 \pm 1{,}4$	$\pm 11{,}3$	66
14^{00}	$48{,}5 \pm 1{,}3$	$\pm 9{,}4$	51
19^{00}	$47{,}8 \pm 1{,}5$	$\pm 11{,}3$	55

Zwar vergrößern sich die Kerne nach Eintritt der Dunkelheit, danach fällt aber die Zellkerngröße wieder langsam ab. Die Streuung

ist im Dauerlicht mit Ausnahme eines Wertes ($10^{00} = \pm 14{,}0$) kleiner als in Dunkelheit.

Gibt man — im Anschluß an eine auslösende Dunkelperiode von 12 Std — Licht unterschiedlicher Dauer, so erhält man eine Auslösung der tagesperiodischen Blattbewegung nur dann, wenn die Lichtzeit mehr als 2 Std beträgt (Abb. 11). Bei Betrachtung der Kurven fällt auf, daß bei 5- und 10stündiger Belichtung (im Anschluß an 12 Std Dunkelheit) Unterschiede im Eintreffen der Senkungsmaxima auftreten gegenüber solchen Pflanzen, die nach Auslösung der Blattbewegung durch eine Dunkelperiode im Dauerlicht gehalten wurden (Abb. 10a und 11c).

Tabelle 8. *Auftreten der ersten 5 Senkungsmaxima in Abhängigkeit von der Auslösungsart bei Pflanzen, die erst im Dauerlicht standen*

DL = Dauerlicht; DD = Dauerdunkel; unterstrichene Zahlen = Std Dunkelheit; nicht unterstrichene Zahlen = Std Licht.

Beendigung des Dauerlichts	Zeitliche Lage der Senkungsmaxima in Stunden nach Beendigung der eingeschobenen Dunkelperiode. Anzahl der ausgewerteten Maxima in ()				
	1.	2.	3.	4.	5.
	Senkungsmaximum				
$\underline{12} + 5$, dann DD	$13{,}0 \pm 1{,}0$ (2)	$42{,}0 \pm 0{,}0$ (4)	$69{,}5 \pm 0{,}3$ (4)	$94{,}0 \pm 0{,}0$ (3)	120,0 (1)
$\underline{12} + 10$, dann DD	$14{,}7 \pm 0{,}3$ (6)	$43{,}7 \pm 0{,}8$ (6)	$71{,}3 \pm 0{,}9$ (6)	$98{,}1 \pm 1{,}1$ (6)	
$\underline{20}$, dann DL	$17{,}7 \pm 0{,}3$ (4)	$48{,}0 \pm 0{,}9$ (4)	$74{,}2 \pm 0{,}4$ (5)	$103{,}4 \pm 1{,}2$ (5)	

Wie Tabelle 8 zeigt, tritt das erste Senkungsmaximum der mit 5 und 10 Std Licht behandelten Pflanzen deutlich früher ein als bei Pflanzen, die nur durch Unterbrechung des Dauerlichtes durch Dunkelheit zur Auslösung der Bewegung veranlaßt worden waren. Auch in den folgenden Senkungsmaxima ist die Verschiebung deutlich zu erkennen. Allerdings läßt sich die Blattbewegung bei diesen Pflanzen nicht länger als 4 Tage verfolgen, da dann die schon von PFEFFER (1875) beobachtete Dunkelstarre eintritt.

e) Die Abhängigkeit der zur Auslösung nötigen Lichtzeit von der Länge der vorher gebotenen Dunkelzeit. Bei Dunkelpflanzen gelingt es schon durch Einschalten relativ kurzer Lichtperioden, die tagesperiodische Blattbewegung auszulösen. BÜNNING (1931) beobachtete das Auftreten der Blattbewegung, wenn er auf Dunkelpflanzen 1 Std rotes Dunkelkammerlicht einwirken ließ.

Wie oben gezeigt wurde, gelingt die Auslösung der Blattbewegung nicht, wenn man Dauerlicht-Pflanzen zunächst 12 Std Dunkelheit gibt,

dann 2 Std belichtet und danach wieder Dunkelheit gibt. Läßt man jedoch auf Dauerlicht-Pflanzen 24 Std Dunkelheit und im Anschluß daran 2 Std Licht einwirken, so löst diese Behandlung die tagesperi-

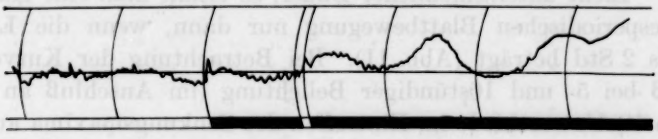

Abb. 13. Auslösung der Blattbewegung durch 24 Std Dunkelheit; anschließend 2 Std Licht, dann Dunkelheit. ■ Dunkelheit; □ Licht; Kreisbögen wie Abb. 8

odische Bewegung aus (Abb. 11b und Abb. 13). An der Kurve von Abb. 13 erkennt man auch wieder das verfrühte Eintreten des ersten Senkungsmaximums.

f) Die Auslösung der Blattbewegung durch einmalige Temperatursenkung auf 5°. Bei Untersuchungen an *Periplaneta* und *Phaseolus*

Abb. 14. Auslösung der Blattbewegung bei Pflanzen, die im Dauerlicht aufgewachsen waren, durch Abkühlung auf 5° C. 12 Std 5° C (die beiden oberen Kurven); 18 Std 5° C (die beiden unteren Kurven). Erste gestrichelte Linie: Zeitpunkt der beginnenden Abkühlung ($1^1/_2$ Std danach waren 5° C erreicht). Zweite gestrichelte Linie: Ende der Kälteperiode; danach stieg die Temperatur im Laufe von 10 Std auf 20° C an. Die ausgezogenen Kreisbögen sind im Abstand von 24 Std, der erste 24 Std nach Ende der Kälteperiode eingezeichnet

zeigte BÜNNING (1958c), daß durch Einwirken von Kälteperioden unterschiedlicher Dauer die rhythmischen Prozesse unterdrückt, nach Übertragen der Organismen in höhere Temperatur aber erneut ausgelöst werden. Dabei wirkt die Rückführung in normale Temperatur als Zeitgeber. Es war nun von Interesse, ob eine einmalige Abkühlung bei Dauerlicht-Pflanzen ebenfalls die tagesperiodische Blattbewegung auslösen kann.

Die Pflanzen wurden bei Dauerlicht und 20° aufgezogen und dann in einer Klimakammer im Verlauf von etwa eineinhalb Stunden auf 5° C abgekühlt. Der Wiederanstieg der Temperatur nach Ende der Kälteperiode erfolgte jedoch wesentlich langsamer: Nach 4 Std zeigte die Klimakammer noch 15° C, und nach weiteren 6 Std war die Temperatur wieder auf 20° C angestiegen. Auf diese Weise war eine genaue Analyse des Auftretens des ersten Senkungsmaximums nicht möglich.

Wie Abb. 14 zeigt, wird durch eine 18stündige Abkühlung der Pflanzen auf 5° C die Blattbewegung ausgelöst, eine 12stündige Abkühlung ist für diesen Effekt dagegen noch nicht ausreichend.

III. Diskussion

Die Auslösung tagesperiodischer Reaktionen bei Pflanzen und Tieren durch einmaligen Reiz in sonst konstanten Bedingungen ist, wie in der Einleitung gesagt wurde, bisher meist als Synchronisierungseffekt gedeutet worden (Bünning 1958a). In einer erst kürzlich erschienenen Arbeit von Cloudsley-Thompson (1958) wird nachdrücklich auf diese Hypothese bei der Deutung des tagesperiodischen Aktivitätsrhythmus von *Gryllus* hingewiesen.

Wenn jede Zelle eine eigene Tagesrhythmik auch unter konstanten Anzuchtbedingungen besitzt, so müßten nach dieser Deutung bei den im Dauerlicht aufgezogenen Pflanzen die Zellkerne im Laufe eines Tages genau dieselben Größen durchlaufen, wie wenn sie nach Einwirkung eines synchronisierenden Reizes gleichsinnig zusammenschwingen. Demgegenüber sahen wir aber, daß die Häufigkeitsverteilungen der Zellkerngrößen bei Dauerlicht- und bei Licht-Dunkel-Pflanzen nicht identisch sind.

Kleinhoonte (1932) hatte bereits darauf hingewiesen, daß sich ihre Versuchsergebnisse über die Auflösung der tagesperiodischen Blattbewegung von *Canavalia* nicht im Sinne einer Synchronisation von Einzelschwingungen deuten lassen.

Wir müssen also annehmen, daß unter konstanten Anzuchtbedingungen im Organismus mindestens häufig keine tagesrhythmischen Vorgänge ablaufen. Das heißt, es gibt Bedingungen, unter denen nicht nur die ganze Pflanze, sondern auch deren Einzelzellen frei von tagesperiodischen Oscillationen sind. Dies könnte erklären, daß im Dauerlicht viele physiologische Vorgänge nicht optimal verlaufen. So beobachteten Warburg et al. (1956), daß die photosynthetische Ausbeute von *Chlorella*, die im Dauerlicht kultiviert worden war, niedriger ist als bei Algen, die einem natürlichen Licht-Dunkel-Wechsel ausgesetzt worden waren. Kleinhoonte (1932) sah ebenfalls Dauerlicht- und Dunkelpflanzen als nicht normal an. Hilman (1956) stellte fest, daß Tomaten bei Anzucht im Dauerlicht schwere Schädigungen zeigten, die wieder rückgängig gemacht werden konnten, wenn man die Pflanzen

einem Licht-Dunkel-Wechsel oder einem Temperaturwechsel aussetzte. Schon die hier gefundene geringe Zellkerngröße im Dauerlicht kann man mit nicht optimalen Leistungen der Zelle in Zusammenhang bringen.

Wie kann man sich nun die Auslösung der endogen rhythmischen Prozesse vorstellen? Für die Auslösung der tagesperiodischen Blattbewegung bei Dauerlicht-Pflanzen ist die Einschaltung einer mindestens 9stündigen Dunkelperiode nötig. Der anschließende Lichtbeginn wirkt dabei als Zeitgeber, d. h. er bestimmt die zeitliche Lage des ersten Senkungsmaximums. Bei einer zu kurzen, nicht auslösenden Dunkelperiode kann der Dunkelprozeß nicht vollständig ablaufen. Und offensichtlich wird dieser Dunkelprozeß, wenn er infolge zu kurzer Zeit noch nicht vollständig abgelaufen ist, im Licht rückgängig gemacht. Dabei scheint, wie die Versuche mit zwei 6stündigen Dunkelperioden zeigten, diese im Licht ablaufende Rückreaktion langsamer zu verlaufen als die Dunkelreaktion; denn es sind 8 Std Licht erforderlich, um 6 Std Dunkelreaktion aufzuheben.

Faßt man die endogen tagesperiodischen Vorgänge als ein Alternieren von Spannungs- und Entspannungsvorgängen auf (BÜNNING 1958c), so lassen sich diese Ergebnisse etwa folgendermaßen interpretieren: Bei Pflanzen, die im Dauerlicht aufgezogen worden waren, liegt ein mittlerer Spannungszustand vor (Abb. 15a, E_m), der sich nicht ändert. Bei Übergang zu Dunkelheit tritt Entspannung ein, nach 9 Std ist das untere Spannungsniveau erreicht (E_u). Erst nach Erreichen dieses kritischen Wertes (etwa im Sinne eines Systems von Kippschwingungen) wird bei erneutem Lichtbeginn ein Spannungsanstieg ermöglicht. Nach einiger Zeit ist die Spannungsphase beendet (E_{max}), und es beginnt die Entspannung.

Ist die Dunkelzeit kürzer als 9 Std, so erfolgt nicht völlige Entspannung (Abb. 15b). Nach Ende der zu kurzen Dunkelperiode erfolgt keine Auslösung der Blattbewegung, da die Voraussetzung dafür das Erreichen des unteren, kritischen Spannungszustandes (E_u) ist. Es stellt sich vielmehr nur der konstante Spannungszustand des Dauerlichts wieder ein. Bei Hintereinanderschalten von zwei kurzen Dunkelperioden, die allein noch keine Auslösung bedingen, ist eine Summation ihrer Wirkungen möglich, wenn die dazwischenliegende Lichtzeit nicht zu lang ist, d. h. wenn der Spannungswert des Dauerlichtes (E_m) nicht erreicht wird (Abb. 15c).

Daß nach Auslösung der Blattbewegung durch 12stündige Dunkelheit und anschließende nur kurze (5 bzw. 10 Std) Lichtzeit das erste Senkungsmaximum im nachfolgenden Dauerdunkel deutlich früher erscheint als bei Pflanzen, die nach Auslösung der Blattbewegung im Dauerlicht gehalten wurden, kann so gedeutet werden, daß hierbei die Entspannungsphase bereits vor Erreichen des oberen Spannungsniveaus

(E_{max}) beginnt und dadurch das erste Senkungsmaximum verfrüht auftritt (Abb. 15d). Bei Pflanzen, die von der Keimung an in Dunkelheit gehalten werden, liegt der untere Spannungszustand vor (E_u). Ein-

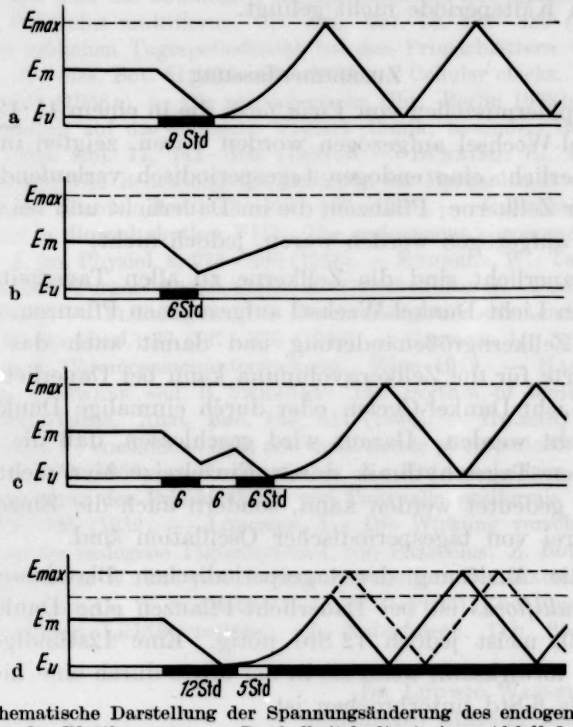

Abb. 15. Schematische Darstellung der Spannungsänderung des endogenen Systems bei der Auslösung der Blattbewegung. a Dunkelheit bedingt einen Abfall des im Dauerlicht konstanten Spannungszustandes Em. Nach 9 Std ist ein unterer Spannungszustand Eu erreicht, der die Voraussetzung dafür ist, daß sich der Oscillator im anschließenden Dauerlicht spannen kann. Nach Erreichen eines maximalen Spannungszustandes E_{max} beginnt wieder eine Entspannung usw. b Der untere Spannungszustand wird bei zu kurzer Dunkelperiode nicht erreicht. Der Oscillator stellt sich langsam wieder auf den mittleren Spannungszustand des Dauerlichtes (Em) ein, da die Voraussetzung für die Auslösung des endogenen Systems — das Erreichen des unteren Spannungszustandes — fehlt. c Wird nach einer zu kurzen Dunkelperiode im anschließenden Licht der mittlere Spannungszustand des Dauerlichtes nicht erreicht, so kann eine zweite Dunkelperiode, die allein gegeben nicht auslösend wirkt, den Oscillator auf den unteren Spannungszustand bringen. Die Voraussetzung für die Auslösung des endogenen Systems ist dann gegeben. d Wird im Anschluß an eine auslösende Dunkelperiode nicht Dauerlicht, sondern nur eine kurze Lichtperiode und anschließend daran Dunkelheit gegeben, so wird der maximale Spannungszustand des Dauerlichtes nicht erreicht. Die nachfolgenden Entspannungs- und Spannungsphasen laufen normal im 24 Std-Rhythmus ab. Die gestrichelte Linie gibt den Verlauf der Oscillationen im Dauerlicht an. *Abszisse*: Zeit; *Ordinate*: Spannungszustand; ■ Dunkelheit; □ Licht

setzende Belichtung leitet die Spannungsphase ein und führt bei Erreichen des oberen Spannungszustandes (E_{max}) zur Auslösung der tagesperiodischen Bewegung.

Die Entspannung kann auch, was durchaus erwartet werden konnte oder sogar mußte, durch tiefe Temperaturen erfolgen (Bünning 1958c).

Es scheinen dabei Dunkelheit und Kälte gleichsinnig zu wirken, denn es gelingt bei Dauerlicht-Pflanzen, die tagesperiodische Bewegung durch eine Kälteperiode von 18 Std auszulösen, während dies mit einer 12-stündigen Kälteperiode nicht gelingt.

Zusammenfassung

1. Blattepidermiszellen von *Vicia faba*, die in einem 11:13stündigen Licht-Dunkel-Wechsel aufgezogen worden waren, zeigten im anschließenden Dauerlicht eine endogen tagesperiodisch verlaufende Größenänderung der Zellkerne; Pflanzen, die im Dauerlicht und bei konstanter Temperatur aufgezogen worden waren, jedoch nicht.

2. Im Dauerlicht sind die Zellkerne zu allen Tageszeiten kleiner als bei den im Licht-Dunkel-Wechsel aufgezogenen Pflanzen. Die tagesperiodische Zellkerngrößenänderung und damit auch das Auftreten größerer Werte für die Zellkernvolumina kann bei Dauerlicht-Pflanzen durch drei Licht-Dunkel-Cyclen oder durch einmalige Dunkelheit von 11 Std erreicht werden. Daraus wird geschlossen, daß die Auslösung der endogenen Tagesrhythmik durch Einzelreize hier nicht als Synchronisation gedeutet werden kann, sondern auch die Einzelzellen im Dauerlicht frei von tagesperiodischer Oscillation sind.

3. Für die Auslösung der tagesperiodischen Blattbewegung von *Phaseolus multiflorus* ist bei Dauerlicht-Pflanzen eine Dunkelzeit von mindestens 9, meist jedoch 12 Std nötig. Eine 12stündige Dunkelperiode wird unwirksam, wenn sie in der Mitte durch eine Lichtperiode von mehr als 6 Std unterbrochen ist.

4. Der Übergang von Dauerlicht zu Dunkelheit löst die Blattbewegung nicht aus.

5. Während bei Pflanzen, deren Blattbewegung durch eine einmalige Dunkelperiode ausgelöst wurde, das erste Senkungsmaximum 18—20 Std nach Lichtbeginn auftritt, zeigt sich verfrühtes Auftreten des ersten Senkungsmaximums (13—15 Std nach Lichtbeginn), wenn man an eine auslösende Dunkelperiode anschließend nicht Dauerlicht gibt, sondern eine begrenzte Lichtzeit (5—10 Std) und danach Dunkelheit.

6. Nach einer auslösenden Dunkelperiode von 12 Std lösen im Anschluß daran gegebene 2 Std Licht die Blattbewegung nicht aus. Gibt man jedoch 24 Std Dunkelheit und dann 2 Std Licht, so wird die Blattbewegung ausgelöst.

7. Im Dauerlicht löst eine 18stündige Abkühlung auf 5° C (vor- und nachher 20° C) die tagesperiodische Blattbewegung aus.

Herrn Prof. Dr. E. BÜNNING danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für sein stetes Interesse an ihrem Fortgang. Die Arbeit wurde mit Sachbeihilfen der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt. Auch dafür sei gedankt.

Literatur

Ball, N. G., and I. J. Dyke: An endogenous 24 hour rhythm in the growth rate of the Avena coleoptile. J. exp. Bot. **5**, 421—433 (1954). — Bünning, E.: Untersuchungen über die autonomen tagesperiodischen Bewegungen der Primärblätter von Phaseolus multiflorus. Jb. wiss. Bot. **75**, 439—489 (1931). — Zur Kenntnis der erblichen Tagesperiodizität bei den Primärblättern von Phaseolus multiflorus. Jb. wiss. Bot. **81**, 411—418 (1935). — Cellular clocks. Nature(Lond.) **181**, 1169—1171 (1958a). — Die physiologische Uhr. Berlin 1958b. — Über den Temperatureinfluß auf die endogene Tagesrhythmik, besonders der Periplaneta americana. Biol. Zbl. **77**, 141—152 (1958c). — Bünning, E., u. G. Schöne-Schneiderhöhn: Die Bedeutung der Zellkerne im Mechanismus der endogenen Tagesrhythmik. Planta (Berl.) **48**, 459—467 (1957). — Cloudsley-Thompson, J. L.: Studies in diurnal rhythm VIII. The endogenous chronometer in Gryllus campestris. J. ins. Physiol. **2**, 275—280 (1958). — Enderle, W.: Tagesperiodische Wachstums- und Turgorschwankungen an Gewebekulturen. Planta (Berl.) **39**, 570—588 (1951). — Flügel, A.: Die Gesetzmäßigkeiten der endogenen Tagesrhythmik. Planta (Berl.) **37**, 337—375 (1949). — Geitler, L.: Schnellmethoden der Kern- und Chromosomenuntersuchung. Wien 1949. — Hastings, J. W., M. Wiesner, J. Owens and B. Sweeney: The rhythm of luminescence in a marine dinoflagellatae. Anat. Rec. **125**, 611 (1956). — Hilman, W. S.: Injury of tomato plants by continuous light and unfavorable photoperiodic cycles. Amer. J. Bot. **43**, 89—96 (1956). — Kleinhoonte, A,: Untersuchungen über die autonomen Bewegungen der Primärblätter von Canavalia ensiformis DC. Jb. wiss. Bot. **75**, 679—725 (1932). — Lörcher, L.: Die Wirkung verschiedener Lichtqualitäten auf die endogene Tagesrhythmik von Phaseolus. Z. Bot. **46**, 209—241 (1958). — Pfeffer, W: Die periodischen Bewegungen der Blattorgane. Leipzig 1875. — Warburg, O., W. Schröder u. H. W. Gatting: Züchtung von Chlorella mit fluktuierenden Lichtintensitäten. Z. Naturforsch. **11b**, 654—657 (1956).

Dr. Ludwig Wassermann,
Memmingen (Allgäu), Hemmerlestr. 3

Planta 53, 670—672 (1959)

Kurze Mitteilung

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Erwin-Baur-Institut, Köln-Vogelsang

ÄNDERUNGEN DER PEROXYDASE- UND KATALASEREAKTION DES BLATTES WÄHREND DER ENTWICKLUNG

Von

PAUL SCHWARZE

(Eingegangen am 26. Juni 1959)

In einer früheren Arbeit (SCHWARZE 1954) wurde berichtet, daß Entwicklungsstörungen der verschiedensten Art zu einem Anstieg der Peroxydasereaktion in den Blättern führen und daß damit in der Regel ein Absinken des Eiweißgehaltes und des Verhältnisses Eiweiß-N/lösl. N verbunden ist. Diese Untersuchungen wurden an gestörten *Phaseolus*- und *Epilobium*-Bastarden, an Magnesium-, Stickstoff- und Eisenmangelpflanzen und an isolierten *Phaseolus*-Blättern durchgeführt. In der vorliegenden Arbeit wird geprüft, ob derartige Erscheinungen auch während der Blattentwicklung unter normalen Bedingungen festzustellen sind.

Material und Methoden

Es wurden auf dem Feld gewachsene etwa 2 Monate alte Sonnenblumen (*Helianthus annuus*, Zuchtstamm von normalem Habitus) und Tabakpflanzen (*Nicotiana tabacum*) benutzt. Die Blätter je einer Pflanze wurden nach Insertionshöhe in vier bis sieben Altersgruppen eingeteilt. Die ältesten Blätter (Gruppe I) zeigten leichte Vergilbungserscheinungen, während die jüngsten noch nicht ausgewachsen waren. Bestimmt wurden außer der Peroxydase auch die Katalase, der Trockensubstanzgehalt und der Eiweiß-N. Die dafür benutzten Methoden sind in der eingangs angeführten Arbeit beschrieben. Zur Peroxydasebestimmung wurde eine abgeänderte Form der photometrischen Indophenolmethode nach GUTHRIE angewendet, zur Katalasebestimmung das jodometrische Verfahren nach JOLLES und STERN. Die Bestimmungen wurden nach 4, 10, 20 und 30 min vorgenommen. Mitgeteilt ist in der Tabelle jeweils nur der Stand der Reaktion nach 10 min. Als Maß für die Peroxydase wird der Extinktionskoeffizient angegeben, als Maß für die Katalase der Mehrverbrauch an n/50 Wasserstoffperoxyd im Vergleich zum Kochsaftansatz. Die Reaktionen wurden auf Frisch- und Trockensubstanz und auf Eiweiß bezogen.

Ergebnisse

Die Befunde an Sonnenblumen sind in der Tabelle wiedergegeben:

Tabelle. *Trockensubstanzgehalt, Eiweißgehalt, Peroxydase- und Katalasereaktion in Sonnenblumenblättern verschiedenen Alters. Versuche vom 23. 6. 1958 und (in Klammern) 2. 7. 1958. Verdünnung: 1:200 für Peroxydase, 1:100 für Katalase*

Altersgruppe (von unten nach oben)	Trockensubstanz in % der Frischsubstanz	Eiweiß-N in % der Frischsubstanz	Peroxydasereaktion bezogen auf			Katalasereaktion bezogen auf		
			Frischsubstanz[1]	Trockensubstanz[2]	Eiweiß-N[3]	Frischsubstanz[4]	Trockensubstanz[5]	Eiweiß-N[6]
I (I)	11,81	0,346 (0,141)	0,33 (0,550)	2,79	95 (390)	3,2 (3,2)	27,1	925 (2270)
II (II)	12,92	0,484 (0,294)	0,38 (0,469)	2,94	79 (159)	3,1 (3,7)	24,0	642 (1260)
III (III)	14,30	0,630 (0,388)	0,28 (0,456)	1,95	44 (118)	3,6 (4,2)	25,2	572 (1080)
IV (IV)	15,29	0,684 (0,585)	0,33 (0,350)	2,16	48 (60)	3,8 (4,45)	24,8	556 (761)
V (V)	16,78	0,730 (0,662)	0,18 (0,263)	1,07	25 (40)	3,7 (4,7)	22,0	507 (710)
VI (VI)	16,60	0,790 (0,667)	0,18 (0,303)	1,08	23 (45)	3,8 (4,45)	22,9	482 (667)
(VII)		(0,646)	(0,326)		(50)	(4,4)		(681)

[1] Extinktion nach 10 min.
[2] Extinktion × 100/Trockensubstanz.
[3] Extinktion × 100/Eiweiß-N.
[4] cm³ verbrauchte n/50 H_2O_2-Lösung nach 10 min.
[5] cm³ verbrauchte n/50 H_2O_2-Lösung × 100/Trockensubstanz.
[6] cm³ verbrauchte n/50 H_2O_2-Lösung × 100/Eiweiß-N.

Trockensubstanz- und Eiweißgehalt nehmen mit dem Alter der Blätter ab. Die Peroxydasereaktion nimmt zu, wenn auf Frischsubstanz, Trockensubstanz und Eiweiß bezogen wird, wobei im letzteren Fall der Anstieg auf das vier- und achtfache besonders augenfällig ist. Der Katalasegehalt geht bei Bezug auf Frischsubstanz mit dem Alter der Blätter leicht zurück und nimmt bei Bezug auf Trockensubstanz leicht zu. Eine sehr starke Zunahme, ein Anstieg auf das Doppelte und nahezu Vierfache, ergibt sich wiederum, wenn Eiweiß als Bezugsgröße gewählt wird. Aus den Zahlen und insbesondere aus den Kurven, mit denen sich die Befunde veranschaulichen lassen, ist zu ersehen, daß sich während der Entwicklung auch das Verhältnis der Aktivitäten beider Enzyme ändert, und zwar verschiebt es sich zugunsten der Peroxydase.

Ein Versuch mit Tabak brachte das gleiche Ergebnis bezüglich der Peroxydase, während die Katalasereaktion auf Eiweiß bezogen nahezu unverändert blieb.

Besprechung der Ergebnisse

Von den gewählten Bezugsgrößen ist zweifellos dem Eiweiß der Vorzug zu geben. Bei der Frisch- und Trockensubstanz ändert sich im Laufe der Entwicklung der Anteil der verschiedenen stofflichen Komponenten (Kohlenhydrate, Eiweiß usw.) in komplizierter und nicht

übersehbarer Weise, und auch die Zahl der Zellen je Gewichtseinheit ist variabel. Wenn man auf Eiweiß bezieht, legt man die Gesamtheit der vorhandenen Enzyme zugrunde; denn das Eiweiß einer Zelle, soweit diese nicht einem Reserveorgan angehört, dürfte im wesentlichen Enzymeiweiß sein. Es ist deshalb anzunehmen, daß Änderungen der Eiweißkonzentration mit Änderungen der Enzymkonzentration einhergehen. Nicht bei jeder Änderung der Enzymaktivität muß es sich indessen um eine Konzentrationsänderung handeln, da diese auch durch das Auftreten oder Verschwinden von Aktivatoren oder Inhibitoren bedingt sein kann. Die letztere Möglichkeit ist im vorliegenden Fall nach Beobachtungen, über die später berichtet wird, nicht sehr wahrscheinlich. Entgegen der Erwartung nehmen die Peroxydase und Katalase im Laufe der Entwicklung nicht ab und bleiben auch nicht, wie es lediglich bei der Katalase des Tabakblattes der Fall ist, bei Bezug auf Eiweiß konstant, sondern sie nehmen ganz erheblich zu. Der Alterungsvorgang ist also nicht nur mit einem Enzymabbau verbunden, sondern es ändert sich auch die qualitative Zusammensetzung des Enzymkomplexes, die den Stoffwechsel der verschiedenen Entwicklungszustände bestimmt, ganz erheblich.

Substrat für beide Enzyme ist das Wasserstoffperoxyd, das bei bestimmten Stoffwechselvorgängen entsteht und durch diese Enzyme beseitigt wird. Die Katalase zerlegt es in Wasser und molekularen Sauerstoff, die Peroxydase bedarf für diese Zerlegung eines durch den freiwerdenden Peroxydsauerstoff oxydierbaren (dehydrierbaren) Cosubstrates. Die starke Zunahme der Peroxydase bedeutet vermutlich, daß dafür geeignete Zellstoffe der verschiedensten Art in älteren Blättern in stärkerem Maß oxydiert werden.

Die Diskussion der vermutlichen näheren Zusammenhänge zwischen dem Rückgang des Eiweißgehaltes und der Zunahme der Peroxydase bleibt einer späteren Veröffentlichung vorbehalten.

Literatur

Schwarze, P.: Beziehungen zwischen Peroxydasereaktion, Eiweißspiegel und Chlorophyllbildung. Planta (Berl.) **44**, 491—502 (1954).

Dr. Paul Schwarze,
Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung (Erwin-Baur-Institut),
Köln-Vogelsang

Autorenverzeichnis des 53. Bandes

Arnold, C.-G., Die Blütenöffnung bei *Oenothera* in Abhängigkeit vom Licht-Dunkelrhythmus. S. 198

Bauer, L., Zur Physiologie der Geschlechtsdifferenzierung bei *Splachnum luteum*. S. 628

Beaucamp, G. s. Werle, E., und V. Schirren. S. 125

Bode, H. R., Über den Einfluß des Heteroauxins auf die Kationenzusammensetzung der Blattasche der Tomate. Kurze Mitteilung. S. 212

Bohling, H., Papierchromatographische Untersuchungen über die Wuchs- und Hemmstoffe des Haferkeimlings und des Maisscutellums. S. 69

Bopp, M., Versuche zur Analyse von Wachstum und Differenzierung des Laubmoosprotonemas. S. 178

Brauner, L., Neue Versuche zur Analyse des geoelektrischen Effekts. S. 449

Busse, M., Über die Wirkungen von Kobalt auf Streckung, Atmung und Substanzeinbau in die Zellwand bei Avenakoleoptilen. S. 25

Doppelbaur, H. W., Studien zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte einiger endolithischen pyrenocarpen Flechten. S. 246

Eberhardt †, F., Über Beziehungen zwischen Anthocyanbildung und Stickstoffumsatz. Aus dem Nachlaß zusammengestellt von W. Haupt. S. 334

Ehrig, H. s. Kausch, W. S. 434

Falk, H. s. Seybold, A. S. 339

Franke, W., Über die Biosynthese des Vitamins C. III. Mitteilung. Nachweis der Unabhängigkeit der Vitamin-C-Bildung von der Photosynthese (bei *Vicia faba minor*). S. 551

Guttenberg, H. v., Über die Perzeption des phototropen Reizes. S. 412

Hämmerling, Ch. s. Hämmerling, J. S. 522

— J., und Ch., Über Bildung und Ausgleich des Polaritätsgefälles bei *Acetabularia*. S. 522

Hämmerling, J. s. Werz, G. S. 145

Hagen-Seyfferth, M., Zur Kenntnis der Geißeln und der Chemotaxis von Chlamydomonas eugametos moewus (Chl. moewusii Gerloff). S. 376

Hamner, K. C. s. Nanda, K. K. S. 45, 53

Haupt, W., Die Chloroplastendrehung bei *Mougeotia*. I. Mitteilung: Über den quantitativen und qualitativen Lichtbedarf der Schwachlichtbewegung. S. 484

Jacobi, G., Über den Zusammenhang von Glykolsäure und lichtabhängiger Phosphorylierung. S. 402

Kausch, W., und H. Ehrig, Beziehungen zwischen Transpiration und Wurzelwerk. S. 434

Kern, H., Ein Beitrag zur quantitativen Bestimmung von Nucleinsäuren in grünen Blättern. S. 595

Lange, O. L. s. Schwemmle, B. S. 134

Libbert, E., Trijodbenzoesäure und die Stoffleitung bei höheren Pflanzen. S. 612

Mohr, H., Der Lichteinfluß auf die Haarbildung am Hypokotyl von *Sinapis alba* L. S. 109

— Der Lichteinfluß auf das Wachstum der Keimblätter bei *Sinapis alba* L. S. 219

— und G. Schoser, Eine Interferenzfilter-Monochromatoranlage für photobiologische Zwecke. S. 1

Muschik, M., Bedeutung von Größe und Alter der Blätter für die photoperiodische Blüteninduktion. S. 575

Nanda, K. K., and K. C. Hamner, Photoperiodic cycles of different lengths in relation to flowering in Biloxi soybean (Glycine max L.; Merr.). S. 45

— and K. C. Hamner, The effect of temperature, auxins, antiauxins and some other chemicals on the endogenous rhythm affecting photoperiodic response of Biloxi soybean (Glycine max L.; Merr.). S. 53

Pisek, A., und E. Winkler, Licht- und Temperaturabhängigkeit der CO_2-Assimilation von Fichte (*Picea excelsa* Link), Zirbe (Pinus cembra L.) und Sonnenblume (*Helianthus annuus* L.). S. 532

Reinert, J., Über die Kontrolle der Morphogenese und die Induktion von Adventivembryonen an Gewebekulturen aus Karotten. S. 318

— und H. Schraudolf, Über die physiologischen Eigenschaften von Gewebekulturen aus Tumor- und normalem Gewebe von *Picea glauca*. S.18

Richter-Landmann, W., Der Befruchtungsvorgang bei *Impatiens glandulifera* Royle unter Berücksichtigung der plasmatischen Organelle von Spermazelle, Eizelle und Zygote. S. 162

Rünger, W., Über den Einfluß der Temperatur während verschiedener Zeitabschnitte der Kurztagperiode auf die Blütenbildung von *Kalanchoë bloßfeldiana*. S. 602

Schirren, V. s. Werle, E. und G. Beaucamp. S. 125

Schoser, G. s. Mohr, H. S. 1

Schraudolf, H. s. Reinert, J. S. 18

Schwarze, P., Änderungen der Peroxydase- und Katalasereaktion des Blattes während der Entwicklung. Kurze Mitteilung. S. 670

Schwemmle, B., und O. L. Lange, Endogen-tagesperiodische Schwankungen der Hitzeresistenz bei *Kalanchoë bloßfeldiana*. S. 134

Seybold, A., und H. Falk, Die Heidelberger Chlorophyllbestimmungen — eine Überprüfung. S. 339

Sprecher, E., Über die Guttation bei Pilzen. I. Mitteilung. S. 565

Stichel, E., Gleichzeitige Induktion von Sprossen und Wurzeln an in vitro kultivierten Gewebestücken von *Cyclamen persicum*. S. 293

Wassermann, L., Die Auslösung endogen-tagesperiodischer Vorgänge bei Pflanzen durch einmalige Reize. S.647

Werle, E., G. Beaucamp und V. Schirren, Über die Aminoxydase von Erbsenkeimlingen und ihre Bedeutung für die Keimung. S. 125

Werz, G., Über polare Plasmaunterschiede bei *Acetabularia*. S. 502

— und J. Hämmelring, Proteinsynthese in wachsenden und nicht wachsenden kernlosen Zellteilen von *Acetabularia*. S. 145

Winkler, E. s. Pisek, A. S. 532